

Technická univerzita v Liberci

FAKULTA PŘÍRODOVĚDNĚ-HUMANITNÍ A PEDAGOGICKÁ

Katedra: Chemie

Studijní program: 7503T Učitelství pro základní školy

Studijní obor: Anglický jazyk- chemie

VONNÉ LÁTKY V ROSTLINÁCH

THE ESSENTIAL OILS IN THE PLANTS

Diplomová práce: 2010–FP–KCH

Autor:

Věra KOPECKÁ

Podpis:

Adresa:

Brodská 404

513 01, Semily

Vedoucí práce: Ing. Jan Grégr

Konzultant: Mgr. Irena Šlamborová, Ph.D

Počet:

stran	grafů	obrázků	tabulek	pramenů	příloh
98	7	47	2	47	7

V Liberci dne: 10. 12. 2010

Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

Datum: 10. 12. 2010

Podpis: Věra KOPECKÁ

Poděkování:

Děkuji svému vedoucímu práce Ing. Janu Grégrovi za vstřícnost, trpělivost a cenné rady, které mi poskytoval během vypracování mé diplomové práce.

Děkuji Ing. Štěpánce Klímkové za pomoc při identifikaci vonných látek na plynovém chromatografu.

Děkuji Mgr. Karlu Strnadovi (řediteli ZŠ Dr. L. F. Riegra v Semilech), který mi umožnil zařadit téma vonných rostlin do výuky na základní škole.

Anotace:

Tato diplomová práce se zabývá vonnými látkami v rostlinách. Teoretická část zahrnuje historii vonných látek, popis vybraných rostlin pro tuto práci, separační metody, kterými lze vonné látky z rostlin získat a chemické složení vonných látek.

V experimentální části byly vymodelovány a popsány struktury těchto látek. Dále jsou zde rozebírány jejich základní vlastnosti, které jsou uspořádané pro větší názornost graficky. Jsou zmíněny i další vlastnosti vonných látek, jako jsou antioxidační, antibakteriální účinky a antimutagenita. Vedle tohoto je nastíněna toxicita těchto látek a jejich možné využití jako přírodních pesticidů či herbicidů. V části - laboratorní práce jsou postupně popsány jednotlivé pokusy separací vonných látek, které byly prováděny v laboratoři. Po vyseparování směsí vonných látek byla provedena identifikace jednotlivých chemických individuů na plynovém chromatografu. V poslední části diplomové práce byla navržena možnost využití této problematiky při výuce na základní škole a tento návrh byl i prakticky odzkoušen při výuce chemie v deváté třídě.

Klíčová slova:

- Vonné látky
- Esenciální oleje
- Aromaterapie
- Separační metody
- Analýza
- Plynová chromatografie

Annotation:

This diploma work deals with the essential oils in the plants. The theoretical part includes the history of these materials , the description of chosen plants, the separation methods by them we can take the essential oils from the plants and the chemical composition of the essential oils.

There are created and described the models of structures of these chemical molecules in the practical part. The basic properties of these chemical molecules are the next step of this part. They are ordered in the graphs. There are also described the other properties of these molecules such as antioxidation, antimutagenity and antibacterial properties. The toxicity and the using of these chemicals like pesticides, herbicides and insecticides are also mentioned. In the next part, called laboratory works, there are sequenced all experiments of separations these chemicals from the plants. The identification of every chemical compounds was done after the separation. The gas chromatograph was used for this purpose. The last part of the diploma work speaks about the opportunity of using this topic during the teaching practise. It was practically used during the teaching of the 9th grade.

Key words:

- Essential oils
- Fragrance
- Aromatherapy
- Separation methods
- Analysis
- Gas chromatography

Annotation:

Cette thèse parle des parfums (substances parfumées) dans des plantes. La partie théorique décrit l'histoire des parfums. Le chapitre suivant contient la description des plantes que j'ai choisies pour ma thèse. Puis, toujours dans la partie théorique, les méthodes de séparation appropriées pour l'obtention des parfums des plantes suivent. Le dernier chapitre de la partie théorique explique ce qu'il y a des parfums du point de vue chimique, et quels parfums de base figurent dans les plantes choisies.

La partie théorique est suivie par la partie expérimentale qui contient la description des modèles et des structures des substances chimiques. Le chapitre suivant décrit les caractéristiques principales des substances classées graphiquement pour une meilleure illustration. En suite les caractéristiques spéciales des parfums comme antioxydantes, antimutagènes et antibactériennes sont décrites. En dehors de ça la toxicité de ces substances est mentionnées et son utilisation possible comme des pesticides naturels où des herbicides. Dans la partie du travail de laboratoire il y a la description des expériences individuelles des séparations des parfums qui ont été réalisées dans un laboratoire. Après la séparation des composants des substances parfumées, l'identification des individualités chimiques en utilisant le chromatographe en phase gazeuse a été réalisée. Dans la dernière partie de la thèse la possibilité d'exploiter ce sujet pendant l'enseignement à l'école primaire a été proposée, et cette proposition a été testée pendant l'enseignement de la chimie dans la neuvième année.

Mots-clés

- Substances parfumées (parfums)
- Huiles essentielles
- Aromathérapie
- Méthodes de séparation
- Analyse
- Chromatographie en phase gazeuse

OBSAH

1. Úvod	11
2. Teoretická část	13
2.1 Historie	13
2.1.1 Starověk	13
2.1.2 Arabové a Evropa	15
2.1.3 Francie.....	15
2.1.4 Současnost.....	16
2.1.5 Vonné silice	17
2.2 Popis vybraných rostlin	18
2.2.1 Jasmín obecný (<i>Jasminum officinale</i>)	18
2.2.2 Růže stolistá (<i>Rosa centifolia</i>).....	19
2.2.3 Levandule lékařská (<i>Levandula officinalis</i>).....	20
2.2.4 Meduňka lékařská (<i>Melissa officinalis</i>)	21
2.2.5 Máta peprná (<i>Mentha piperita</i>)	22
2.2.6 Šalvěj lékařská (<i>Salvina officinalis</i>)	22
2.2.7 Mateřídouška (<i>Thymus serpyllum</i>).....	23
2.2.8 Tymián obecný (<i>Thymus vulgaris</i>)	24
2.2.9 Dobromysl obyčejná (<i>Origanum vulgare</i>)	25
2.2.10 Citron (<i>Citrus limonum</i>)	26
2.2.11 Pomeranč (<i>Citrus aurantium</i>)	26
2.3 Separace vonných látek z rostlin	28
2.3.1 Enfleurage	28
2.3.2 Destilace s vodní parou	29
2.3.3 Extrakce tuhých látek kapalinou.....	30

2.3.4 Lisování	32
2.4 Složení vonných silic	33
2.4.1 Obecná charakteristika vonných silic	33
2.4.2 Vybrané rostliny a silice v nich obsažené	34
3. Experimentální část	36
3.1 Vzorce a struktura studovaných látek	37
3.1.1 Jasmín obecný (<i>Jasminum officinale</i>)	37
3.1.2 Růže stolistá (<i>Rosa centifolia</i>)	38
3.1.3 Levandule lékařská (<i>Levandula officinalis</i>)	39
3.1.4 Meduňka lékařská (<i>Mellisa officinalis</i>)	40
3.1.5 Máta peprná (<i>Mentha piperita</i>)	41
3.1.6 Šalvěj lékařská (<i>Salvia officinalis</i>)	42
3.1.7 Mateřídouška obecná (<i>Thymus vulgaris</i>)	43
3.1.8 Tymián obecný (<i>Thymus vulgaris</i>)	45
3.1.9 Dobromysl obyčejná (<i>Origanum vulgare</i>)	45
3.1.10 Citron, pomeranč (<i>Citrus lemon, citrus sinensis</i>)	45
3.2 Vlastnosti studovaných látek	46
3.2.1 Polarita	47
3.2.2 Rozpustnost ve vodě	49
3.2.3 Rozdělovací koeficient oktanol/ voda- log P	51
3.2.4 Tenze páry- mm Hg sloupce při 25 °C	52
3.2.5 Henryho konstanta	54
3.3 Toxicita a antibakteriální vlastnosti studovaných látek ^{16,17,18,23, 26}	56
3.3.1 Antioxidační vlastnosti ¹⁶	56
3.3.2 Pesticidy, herbicidy a insekticidy ¹⁷	57

3.3.3 Antibakteriální vlastnosti ¹⁸	57
3.3.4 Antimutagenní vlastnosti ²³	58
3.3.5 Toxicita vonných látek ²⁶	58
4. Laboratorní práce	61
4.1 Separace vonných látek	61
4.1.1 Destilace	62
4.1.2 Extrakce	65
4.1.3 Lisování	70
4.1.4 Shrnutí	71
4.2 Plynová chromatografie	72
4.2.1 Analýza extraktů	74
4.3 Výsledky a jejich diskuze	75
5. Návrh na zařazení studované problematiky do výuky na ZŠ	76
5.1 Teoretická část výuky na téma vonné látky v rostlinách	77
5.2 Praktická část výuky na téma vonné látky v rostlinách	79
5.3 Řešení	81
6. Závěr	84
7. Literatura	85
8. Přílohy	89

1. Úvod

Tématem mé diplomové práce jsou vonné látky v rostlinách. Stejnou problematikou jsem se zabývala i v rámci mé studentské vědecké a umělecké činnosti. Stanovila jsem si několik cílů, kterých bych při své práci chtěla dosáhnout. Nejprve jsem se tedy zaměřila na to, jaké konkrétní rostliny budou nejvhodnější. Zvolila jsem takové byliny, které jsou dostupné v místě mého bydliště, popřípadě v oblasti, kde trávím své letní prázdniny- oblast Balkánského poloostrova.

Pomocí nejrůznějších literárních a internetových zdrojů jsem zjistila, jaké vonné silice mnou vybrané rostliny obsahují, a na základě toho jsem poté zjišťovala nejrůznější informace o nich. Po zjištění vlastností těchto látek jsem se zabývala odlišnými separačními metodami, kterými lze vonné silice z rostlin získat.

Různými separačními metodami lze z rostlin získat pouze směsi chemických individuů, proto dalším krokem v mé práci bylo pokusit se tato jednotlivá individua určit a zjistit, v jakém poměru a množství jsou v dané rostlině zastoupena.

Vonné silice jsou si látky navzájem velmi podobné svým složením, proto dalším cílem, který jsem si pro práci stanovila, bylo nastínit problémy, které při práci s těmito látkami mohou nastat.

Díky dokonalé znalosti struktury a vlastností studovaných látek jsem se po té snažila naznačit možná řešení problémů, které mohou při práci s těmito látkami nastat.

Jedná se o látky, které jsou si podobné jednak svým chemickým složením a také svými vlastnostmi fyzikálními. Tyto vlastnosti jsem zpracovala graficky tak, aby byl patrný trend jejich snižování se či zvyšování se a na základě toho bylo možné stanovit metodu, která by pro jejich separaci z rostlin byla nejvhodnější.

Posledním krokem v mé práci po té bylo jednak nastínit využití těchto rostlin, zmínit rizika při práci s nimi, dále naznačit jejich antibakteriální a toxické vlastnosti. Vzhledem k tomu, že má diplomová práce je psána na katedře přírodovědně- humanitní a pedagogické, tudíž se v poslední kapitole zabývám tím, jak by bylo možné poznatků, touto prací získaných, využít při pedagogické praxi. Navrhla jsem a sestavila plán hodiny pro devátou třídu, který nastiňuje, jak by bylo možné tuto problematiku zařadit do výuky na základní škole.

Ve své diplomové práci se snažím odpovědět na všechny otázky, které jsem si na začátku položila. Jsou zde chronologicky popsány kroky, podle kterých jsem při své práci a bádání postupovala.

2. Teoretická část

V teoretické části diplomové práce se zabývám historií výroby parfémů, která s vonnými silicemi velmi úzce souvisí. Zmiňuji také vývoj jednotlivých separačních metod a jejich využití v praxi.

Dále se zabývám popisem rostlin, které jsem si ke své diplomové práci zvolila a jaký vliv mají tyto rostliny a látky v nich obsažené na živý organizmus.

Jsou zde také podrobně popsány jednotlivé separační techniky a jejich implementace na vybrané rostliny.

V poslední kapitole teoretické části je popsáno, z čeho se vonné silice skládají a jaké látky obsahují rostliny, které jsem si vybrala pro moji diplomovou práci

2.1 Historie

Původ slova parfém sahá do dávných dob a odvozuje se od slovního spojení *per fumum*, což znamená kouřem nebo prostřednictvím kouře. Už od dávnověku pálili lidé vonné byliny a obětovali vonný kouř bohům.

2.1.1 Starověk

Podle Eposu o Gilgamešovi si Sumerové potírali vlasy vonným olejem, vonnými oleji si masírovali i údy a z kadidelnic stoupala vůně omamného cedru. Už před pěti tisíci lety se Sumerové i Egyptané koupali v jasmínovém, kosatcovém, hyacintovém či jiném oleji. Tajemství výroby vonných látek je zaneseno klínovým písmem na hliněných mezopotamských tabulkách. Také ve staroindických védách starých tři až čtyři tisíce let se píše o růžovém oleji a puškvorcové silici. O vůních se hovoří i v Kámasútře z prvního století n. l. Četné papyrasy a reliéfy dokládají, že Egyptané používali vonné silice k parfemaci svých oděvů, k dochucování potravin a nápojů, k léčbě a také, což je velmi

důležité, k balzamování. Roku 1922 vstoupili badatelé do Tutanchamonovy hrobky a vůně bylinných olejů zde byla stále ještě znatelná. Egypťané znali už před třemi tisíci lety vonné směsi připravené z pižma, ambry a durianu. Egypské ženy používaly nejrůznější kosmetiku, dokonce i přípravky na svěží dech. K udržení svěžího dechu sloužily myrha a jalovcové plody.

Před více než 2000 lety napsal řecký lékař Theophrastus studii o vůních a jejich léčivých účincích. Zmíněná studie se jmenovala O Vůních a byly v ní položeny základy našeho současného chápání aromaterapie. Theophrastus zde popsal účinky různých květinových výtažků a povšiml si také, že teplý obklad z aromatické rostliny přiložený na nohu, ovlivnil i dech dotýcného, který byl vonný- výtažky pronikly kůží a dostaly se do oběhového systému.

Italští chemici dokázali vyrobit podle starých záznamů parfém, který kdysi užívala slavná egyptská královna Kleopatra. Parfém obsahuje mimo jiné balzám, myrhu, skořici, kardamom, kořen kosatce, lotos, šafrán a majoránku. Plachty Kleopatřiny lodi byly prý napuštěné růžovou vodou a na palubě stála kadidelnice, z níž se linula vůně proslaveného egyptského parfému kifi. Skládal se z puškvorce a skořicového, mátového, pistáciového, jalovcového a akáciového oleje.

Egypťané vyráběli voňavky tak, že namáčeli vonné rostliny do oleje a tekutinu potom ždímalí přes plátno nebo namáčeli okvětní plátky rostlin do tuku, který absorboval a udržel jejich vůni.

Parfémy patřily nerozlučně i k antickému Římu. Růže na výrobu vonných směsí, které používaly jak římské patricijky, tak kurtizány, se dovážely z dnešní Libye, fialky z Atén a čajové růže z Egypta. Vonné látky se pokládaly za významné afrodiziakum. Bohatí Římané poprašovali zdi a podlahy svých domů parfémy, omývali jimi dokonce své malé psy a koníky anebo polévali voňavkami zástavy vítězných vojsk.¹

2.1.2 Arabové a Evropa

Velký pokrok v historii parfémů nastal v raném středověku, kdy Arabové vymysleli techniku na destilaci rostlin ve velkém. Jednalo se o destilaci vodní parou. Tento způsob získávání vonných silic je stále nejefektivnějším způsobem jejich získání. V průběhu 11. století perští chemikové získali destilací neobvyklé a složité výtažky, byl mezi nimi i růžový olej. Celá staletí byla výroba parfémů převážně uměním Arabů, v severní Evropě bylo toto umění téměř zapomenuté. Až teprve v době křížáckých válek se toto umění rozšiřuje do Evropy, jelikož si křížácká vojska ze svých výprav přinášela nádherně voňavé směsi a tím byl o parfémy vzbuzen veliký zájem.^{1,2}

2.1.3 Francie

Až do počátku 16. století byla parfumerie naprostou výsadou Italů. Teprve až v době renesanční začala pronikat do Francie. A tak první etapa francouzského voňavkářství nastala v 16. století, kdy se Kateřina Medicejská (1519 – 1589) stala francouzskou královnou a založila v provensálském městě Grasse, kde je dnes světové Muzeum parfémů, první zdejší laboratoř určenou k výrobě voňavek. Kateřina Medicejská si s sebou do Francie přivezla italského voňavkáře Reného de Florence. Grasse se stalo už tehdy centrem výroby parfémů. Také díky tomu, že v okolí rostly lány levandule a růžových keřů. Tehdejší parfémy byly připravovány již jako lihové roztoky silic vonných drog. Nebyly ještě tak krásné, protože postrádaly vůni olejů květinových.

Nejen Kateřina Medicejská, ale i britská královna Alžběta I. měla slabost pro parfémy. Díky ní patří dnes ke korunovačnímu obřadu britských králů pomazání ambrovým olejem s esencí z růžových květů a jasmínu.

V 18. století v období rokoka se parfém stává velmi žádaným luxusním zbožím. Versailles, sídlo francouzských králů, bývalo dokonce nazýváno parfémovaný dvůr (la cour parfumée). Milenka Ludvíka XV. Madame Pompadour, vydávala ročně za parfémy

a kosmetiku půl milionu franků. Milovala hlavně květinové vůně v elegantních flakonech. Podobně tomu bylo za Ludvíka XVI. a Marie Antoinetty. Ta měla svého královského voňavkáře Jeana-Luise Fargeona.

V mimořádné oblibě měl vůně i Napoleon Bonaparte. Užíval každý den lahvičku až dvě kolínské vody, aby přehlušil zápach vojenských bot. Obsahovala vůni citronu a rozmarýnu a další ingredience, které se podařilo zjistit z pozůstalosti Napoleonova komorníka Aliho. Říká se, že to byla vůně doslova hypnotická.^{1,2}

2.1.4 Současnost

Dnes je vynaloženo velké úsilí na vybudování marketingového procesu, který zajišťuje, aby se ten který parfém dobře prodával. Jedním z hlavních kritérií dobrého parfému je atraktivní obal, který silně ovlivňuje jeho prodej. Existuje tedy mnoho společností, které se zabývají pouze výrobou obalů. Velmi důležitá je také reklama. Většina společností k propagaci svých parfémů využívá tváře světoznámých modelek. Představení nového parfému na trhu bývá velikou událostí a stojí miliony dolarů. Odměna ve formě úspěchu se však většinou dostaví. Má-li parfém opravdový úspěch, může se stát „klasikou.“ To jest parfémem, který překonal módní obměny a setrval na trhu nejméně jednu generaci. Koupíme-li si dnes parfém, který používala naše babička, tak si můžeme být jisti, že se jedná o parfém velice dobrý. Jedním z nejznámějších parfémů všech dob je Chanel číslo 5. Chanel je zatím jedinou společností, která si vyrábí své vlastní esence, z nichž pak vznikají nové parfémy. Coco Chanel říkala, že žena, která nepoužívá parfém, nemá budoucnost. Nemusí se její slova brát doslova, ale jsou možným tématem k zamyšlení. K jedinečnému stylu oblékání jistě parfém patří, korunuje styl oblékání i doplňky.¹

2.1.5 Vonné silice

Prvních silic pro účely parfumerie bylo použito až počátkem 16. století. Nejprudší vzestup jejich užívání byl v letech 1540 až 1589, kdy byl zaznamenán přírůstek více než 60 nových silic. Další přibývaly mnohem pomaleji, a tak na počátku 18. století byl vývoj prakticky ukončen. Dobu od 16. století do počátku 18. století lze tedy označit za první velkou etapu parfumerie. Další vývoj šel pak spíše více do hloubky. Byla zlepšována jakost silic, docházelo ke zdokonalování destilačních zařízení. Avšak ani tímto nebyl vývoj ukončen, protože až na počátku 19. století se začaly v jižní Francii, ve městě Grasse, získávat silice z květů extrakčními metodami. Z počátku šlo o extrakce tukem, za studena i za tepla. Tím získala parfumerie nové suroviny- výtažky z květin. Francie se tak stala skutečným střediskem parfumerie celého světa, protože nikde jinde se nedaly vypěstovat tak nádherně a intenzivně vonící květy jako právě v jižní Francii. Extrakce silic je velmi složitý a nákladný proces. Většina se jich získává destilací vodní parou nebo absorpcí vhodných látek do vazelíny- tomuto postupu se říká enfleurage. K získání malého množství oleje destilací je třeba velké množství suroviny: z cca 115 kg růžových lístků se získá zhruba 25 ml silice.²

2.2 Popis vybraných rostlin

Jak již bylo zmíněno v úvodu, ke své práci jsem si vybrala rostliny, kterou jsou dostupné v místě mého bydliště- bývalé okresní město Semily a také rostliny, které se vyskytují v oblasti Chorvatska, konkrétně na ostrově Rab. Vybrala jsem si rostliny, které obsahují vonné silice. Složení, vlastnosti a struktura těchto látek budou dále popsány v experimentální části diplomové práce. V této části se zaměřím na samotný popis rostlin a v poslední kapitole na charakteristiku vonných silic.

2.2.1 Jasmín obecný (*Jasminum officinale*)

Jasmín byl oblíbenou látkou starověkých Indů, Arabů a Číňanů. Měl využití v mnoha oblastech, mimo jiné i k navonění koupele, těla, místností a bylinných čajů. V šestnáctém století se z Persie dostal do Evropy.

Jeho bílé květy vydávají sladce medovou květinovou vůni s ovocným nádechem. Metodou enfleurage se získává tmavě červený olej, který má intenzivní květinovou vůni. Vedle růže to je jeden z nejdůležitějších a nejdražších výtažků používaných při výrobě parfémů.

Jasmín pozvedá náladu, zahání úzkost a depresi, je to také vyhledávané afrodiziakum. Je také proslaveným lékem proti frigiditě a impotenci, uvolňuje menstruační křeče a zklidňuje zanícenou a podrážděnou kůži.³



Obr. 1: Květ pustorylu obecného³⁵

2.2.2 Růže stolistá (*Rosa centifolia*)

Díky své vůni je růže oblíbená už od dob starověkých Římanů, kteří ji vplétali do věnců, aromatizovali jí koupele a parfémy, vystavovali ji na veřejných výstavách. Kleopatra si údajně ložnici nechávala pokrývat růžovými okvětními lístky.

V Bulharsku se pěstuje Damacénská růže, jejíž květy jsou sbírány za rozbřesku a pak začíná čtyřadvacetihodinová výroba hnědého oleje. K získání 1 kg oleje je přibližně třeba 5 tun lístků, není tedy překvapením, že je to jeden z nejdražších olejů na světě. Stolisté růže, ze kterých se získává olej výrazné vůně, se pěstují ve Francii, Alžírsku, Maroku a Egyptě.

Růže má afrodiziakální a povzbuzující účinky, harmonizuje a posiluje. Využívá se k léčbě zácpy, bolestí hlavy a psychického vyčerpání, bolestí menstruačních a kožních obtíží. Je to jedna z nejméně toxických silic- používá se tedy k ošetření starší a sušší pokožky.³



Obr. 2: Květ růže stolisté³⁶

2.2.3 Levandule lékařská (*Levandula officinalis*)

Slovo levandule je odvozeno od latinského lavare= mýt. Byla totiž jednou z nejoblíbenějších bylin, kterou starověcí Římané používali při každodenních rituálních koupelích. Řekové i Římané pálili levandulové větvičky, aby očistili vzduch v místnostech, ve kterých pobývali a také je chránili před morem. Do Evropy se levandule dostala spolu s Římany.

Levandule je keřovitá rostlina s dřevitými větvičkami, dlouhými úzkými listy a nachovomodrými květy v klasech na dlouhých lodyhách. Rostliny se nasbírají, usuší a následně destilují. Silicový olej je průsvitný až nažloutlý a výrazně voní.

Levandule má uklidňující i povzbuzující účinky, čímž tedy výborně uvádí do rovnováhy nervové i emoční funkce. Léčí migrénu. Používá se jako antiseptikum k léčbě mnoha kožních obtíží a zánětů plic i k léčbě trávicích a močových cest. Je všestranně využitelná.³



Obr. 3: Levandule lékařská³⁷

2.2.4 Meduňka lékařská (*Melissa officinalis*)

Již starověcí Římané a Řekové znali účinky meduňky a švýcarský lékař Paracelsus ji v 16. Století nazval elixírem života.

Vyskytuje se hlavně v Evropě, ale najdeme ji také i v Severní Americe. Je to keřovitá trvalka příbuzná mátě. Silicový olej je louhován z listů a má podobnou vůni citronům.

Meduňka je známá jako povznášející a tišící lék na melancholii. Protikřečové a povznášející účinky meduňky jsou využívány při léčbě alergií, nachlazení, průjmu, vysokého krevního tlaku, migrény a bolestí hlavy stresového původu. Silicový olej pomáhá snižovat krevní tlak a odstraňovat tenzi.³



Obr. 4: Meduňka lékařská³⁸

2.2.5 Máta peprná (*Mentha piperita*)

V Egyptě byla máta používána k aromatizaci vína a jídla a Culpeperem byla v 17. Století označena za jeden z nejúčinnějších léků při plynatosti a zvracení.

Máta má kratší a širší listy a zašpičatělé nachové květy. Tradiční britský druh je rozšířený po celém světě. Bezbarvý mátový olej se destiluje z celých, částečně usušených rostlin a má výrazně osvěžující vůni.

Máta výborně pomáhá při trávicích a kožních problémech a překrvování. Používá se při léčbě rýmy, chřipky, plynatosti, bolení hlavy, špatného trávení, žaludeční nevolnosti, bolení zubů i popálenin od Slunce. V létě je vyhledávána pro své chladivé účinky, pomáhá při únavě a nepříjemném zápachu nohou.³



Obr. 5: Květ máty peprné³⁹

2.2.6 Šalvěj lékařská (*Salvia officinalis*)

Posvátná bylina, kterou Egypťané používali k léčení ženské neplodnosti. Číňany je v lékařství využívána již po celá staletí.

Řada odrůd šalvěje jsou byliny vzhledem podobné keřům a jejich listy mají drsný, vrásčitý povrch. Olej je destilovaný z usušených listů a má silnou, svěží vůni s kafrovitým nádechem.

Tonikum šalvěje je proslavené hlavně díky tomu, že upravuje menstruaci. Pomáhá však také zmírnit artritidu, bakteriální infekce, záněty krku a retenci vody. Ve velkých dávkách však může šalvěj povzbuzovat příliš a z tohoto důvodu by neměla být používána pacienti trpícími epilepsií. Neměla by také být podávána v raném těhotenství.³



Obr. 6: Květ šalvěje lékařské⁴⁰

2.2.7 Mateřídouška (*Thymus serpyllum*)

Tato drobná vytrvalá bylina se honě vyskytuje v Evropě, včetně České republiky. Hojně roste na suchých stráních, na mezích a při okrajích cest.

Mateřídoušková silice podporuje imunitní systém, zmírňuje únavu, bolesti hlavy a deprese. Je vhodná při nachlazení, uvolňuje hleny, mírní kašel. V koupeli je účinná proti revmatu, napomáhá při hojení hnisavých ran. Nevhodná při vysokém krevním tlaku a je třeba ji užívat jen v nízkých koncentracích.⁵



Obr. 7: Mateřídouška⁴¹

2.2.8 Tymián obecný (*Thymus vulgaris*)

Tento 30 – 40 cm vysoký polokeř kvete bílými nebo bledě nachovými květy. Jeho antiseptické a konzervační účinky znali již staří Egypťané. Ti jej používali k balzamování. Řekové přidávali tymián do koupelí i do masážních olejů po koupeli. Římští vojáci naopak používali koupele z tymiánu, aby si dodali sílu.

Tymián se používá jako antidepresivum. Dále se používá k potlačení únavy, na léčení nemocí dýchacích cest a rýmy, mírní záněty dutin, usnadňuje vykašlávání. Napomáhá obranyschopnosti organismu - podporuje tvorbu bílých krvinek. Působí blahodárně na mastnou, zánětlivou a akozní pleť. Bývá také součástí vlasové vody, kde působí kladně na mastné vlasy.⁴



Obr. 8: Tymián obecný⁴²

2.2.9 Dobromysl obyčejná (*Origanum vulgare*)

Původně byla dobromysl rozšířena v oblasti Středomoří, začátky jejího pěstování sahají již do antiky a později se rozšířila i do ostatních míst Evropy. Hojně se vykytuje i v České republice.

Používá se v lékařství pro své aseptické a protizánětlivé účinky, usnadňuje odkašlávání a zvyšuje vyměšování žluči. Je známá také jako koření oregano. Jako droga představuje silný prostředek uvolňující křečovitě stahování hladkého svalstva. Používá se také na obklady a osvěžující koupele. Barvivo, které je obsaženo v nati dobromysli, se používá k barvení ovčí vlny.⁵



Obr. 9: Květ dobromysli obyčejné⁴³

2.2.10 Citron (*Citrus limonum*)

Staří mořeplavci se před dlouhými plavbami zásobovali citrony, aby tak předešli nemoci zvané kurděje a pročistili si pitnou vodu. Citron se používal díky svým protizánětlivým a protisvýravým účinkům jako první pomoc při řezných ranách, k ošetření pohmožděnin a hmyzího bodnutí.

Citronovník se pěstuje ve většině středomořských zemí, USA, Argentině, Brazílii, Izraeli a Africe. Má růžovobílé květy a jasné žluté plody. Světle žlutý olej se lisuje z kůry a pro svou výraznou ostrou vůni se používá jako přísada do parfémů.

Citron je silné antiseptikum a antidepresivum, proto jej lze použít k léčbě bradavic a nežitů. Snižuje krevní tlak a léčí nachlazení, dále je účinný při trávicích obtížích, horečce a žlučových kamenech. Užívá se také jako složka do čistících přípravků pro mastnou pleť.³



Obr. 10: Plody citronu⁴⁴

2.2.11 Pomeranč (*Citrus auratium*)

Pomerančovník pochází z Číny. Jeho olej lisovaný z kůry se využívá ke kulinářským, kosmetickým i léčebným účelům.

Pomerančový olej se získává lisováním pomerančové kůry za studena a je žlutohnědé barvy.

Pomeranč je vhodným lékem při stanovení úzkosti a deprese, protože osvěžuje a zároveň zklidňuje. Povzbuzuje činnost trávicí soustavy a účinně také působí proti zácpě. Díky antiseptickým účinkům je vhodný pro léčení ústních vředů. Je bohatý na vitamin C.³



Obr. 11: Plody pomeranče⁴⁵

2.3 Separace vonných látek z rostlin

Vonné silice se dají z rostlin získat laboratoři nejrůznějšími separačními metodami. O aplikaci jednotlivých separačních metod na konkrétní rostliny bude více a podrobněji hovořeno v experimentální části diplomové práce. V této části bude také zdůvodněno, proč byly vybrány právě tyto metody.

V této teoretické části bych tedy chtěla jen stručně nastínit jednotlivé metody- v čem spočívá jejich princip a také bych zde ráda popsala jednotlivé aparatury, které se k nim používají.

Než přejdu k metodám, které se dnes hojně využívají v moderních laboratořích, ráda bych zmínila jednu užitečnou metodu, která se využívala k získání vonných olejů v dávné minulosti.

2.3.1 Enfleurage

K získávání vzácnějších vonných olejů z rostlin se dříve hojně využívala a dnes ještě zřídka využívá metoda zvaná enfleurage. Její princip spočívá v tom, že se na vrstvu zvířecího nebo rostlinného tuku rozprostřeného na látce pokládají okvětní lístky rostlin. Zpravidla se na sebe pokládá několik takovýchto vrstev. Takto připravené pláty látek v dřevěných rámech se ponechávají v klidu na suchém a světlém místě, aby esence nasákla do tuku. Tento proces se opakuje tak dlouho, dokud tuk není vonnými esencemi dostatečně nasycen. Posléze se esence z tuku získává pomocí alkoholu. Touto metodou se získávají vonné silice z jasmínu nebo z růží.¹²



Obr. 12: Historické zobrazení enfleurage⁴⁶

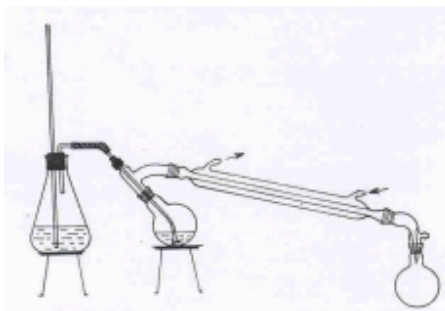


Obr. 13: Enfleurage⁴⁶

2.3.2 Destilace s vodní parou

Podle Daltonova zákona je rovnovážný tlak par nad směsí dvou nemísitelných kapalin roven součtu rovnovážných tlaků par nad izolovanými fázemi. Díky tomu je teplota varu směsi, což je teplota, při které se tlak par rovná okolnímu tlaku, ještě nižší než je teplota varu čisté níževroucí složky. Látková množství složek v páře jsou v poměru jejich parciálních tlaků. Tohoto jevu se využívá při *destilaci s vodní parou*, která většinou slouží k čištění organických látek s velmi vysokou teplotou varu při normálním tlaku, které nejsou mísitelné s vodou.

Tato operace se provádí tak, že ke dnu destilační baňky se směsí surové látky a vody se trubicí přivádí vodní pára. K vyvíjení vodní páry nám poslouží předřazená vícehrdlá baňka. Jedním hrdlem vyvíječe prochází pojistná trubice, jejíž dolní konec je těsně nad dnem vyvíječe, druhým je za pomoci krátké hadičky vedena vznikající pára do baňky s destilovanou látkou. Vedení páry z vyvíječe by mělo být co nejkratší kvůli omezení ztráty tepla. Pára vytvořená varem vody ve vyvíječi ohřívá a zároveň promíchává obsah destilační baňky a unáší páru destilované látky do chladiče. Varné kamínky musí být umístěny ve vyvíječi páry, ne v destilační baňce. Aby příliš nepřibývalo vody v destilační baňce, přiměřeně její obsah zahříváme. Destilace trvá tak dlouho, dokud je destilát heterogenní (obsahuje dvě kapalně fáze).^{6,7}



Obr. 14: Aparatura pro destilaci s vodní parou⁴⁷

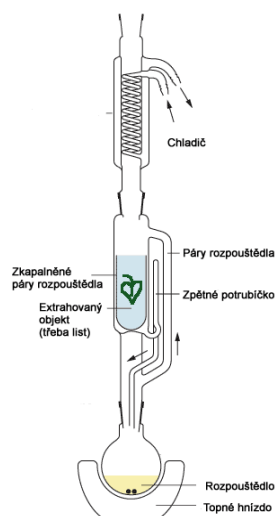
2.3.3 Extrakce tuhých látek kapalinou

Extrakce tuhých látek kapalinou je obvykle zdlouhavá, protože je pomalá difúze extrahované látky tuhou fází. Z tohoto důvodu se dává přednost kontinuální extrakci, např. v Soxhletově extraktoru. Tuhá fáze je umístěna v patroně ze speciálního papíru nebo porézní keramiky, rozpouštědlo se nachází v baňce. Zahříváním se rozpouštědlo odpařuje, páry kondenzují v chladiči a stékají do patrony. Po dosažení určité hladiny dojde k přetečení rozpouštědla s rozpouštěnou látkou sifonem do baňky.

Extrakce prováděná Soxhletovým přístrojem je jednoduchá, nevyžaduje speciální instrumentaci. Používá se hodně i v oficiálních metodách (např. při normalizovaném postupu EPA 3510, pro stanovení pesticidů v půdách) a slouží též jako referenční metoda během vývoje nových extrakčních metod. Mezi její nevýhody patří dlouhá doba extrakce a velká spotřeba rozpouštědel.

Značného urychlení extrakce se dosáhne zvýšením teploty a tlaku. Zde jde o zrychlení extrakce rozpouštědly (ASE - Accelerent solvent extraction). Používají se stejná rozpouštědla jako při extrakci v Soxhletově přístroji, avšak díky zrychlení kinetiky v ASE lze použít i rozpouštědla, která jsou jinak málo účinná. Při vyšší teplotě roste rozpustnost extrahovaných látek v organických rozpouštědlech a také se zrychluje transport hmoty. Rovněž vzroste rozpustnost vody (přítomné v pórech tuhé fáze) v organických rozpouštědlech, a tak se stávají analyty méně dostupné. Zvýšený tlak napomáhá udržet rozpouštědla v kapalném stavu.

Existují i další extrakční metody extrakce na tuhou fázi. Jsou jimi: extrakce subkritickou vodou, extrakce mikrovlnným ohřevem, extrakce ultrazvukem, extrakce tuhých látek nadkritickou tekutinou.^{6,7}



Obr. 15: Soxhletův extraktor

Extrakce na Soxhletově přístroji je dokonalá a pohodlná metoda. Aparatura se skládá z destilační baňky, Soxhletova přístroje a chladiče. Nejprve se do stojanu uchyťí varná baňka, která je naplněna rozpouštědlem. Po té je nad ní upevněn Soxhletův přístroj, do kterého je vložena papírová nebo skleněná patrona s náplní - listy nebo sušené květy. Z hotového extraktu jsou pak dále izolovány požadované látky.

2.3.4 Lisování

Pomocí lisování lze získat jen takové vonné silice, kterou jsou v rostlině či v plodech obleženy ve velkém množství. Lisuje se zejména šroubovými lisami tak, že rostlinné součásti určené k lisování se vloží do plátěných roušek. Ty se vkládají mezi železné desky lisu a tlak se pozvolným utahováním šroubu lisu zvětšuje. Tímto způsobem však mnoho kry zůstává neporušeno, proto se spíše k lisování využívá lisu hydraulického, který všechn vonný olej vytlačí.²⁵

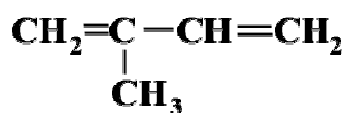
2.4 Složení vonných silic

2.4.1 Obecná charakteristika vonných silic

Vonné silice jsou směsi převážně lipofilních látek nazývaných terpeny (pokud to jsou uhlovodíky) nebo obecněji terpenoidy.

Je známo více než 22 000 rozmanitých terpenoidů s obrovskou strukturní variabilitou. Jsou mezi nimi sloučeniny acyklické i cyklické, uhlovodíky i sloučeniny obsahující atomy kyslíku. Například R- karvon je keton izolovaný z máty peprné.

Všechny terpenoidy jsou si látky navzájem velmi příbuzné. Všechny lze odvodit z jednoduché pětiuhlíkaté jednotky- IZOPRENU (2-methylbuta-1,3-dien).^{8,9}



Obr. 16: Vzorec izoprenu

Klasifikace terpenoidů je založena na počtu na sebe navázaných izoprenových jednotek:

Monoterpeny obsahují dvě navázané izoprenové jednotky.

Seskviterpeny jsou látky obsahující tři takovéto jednotky.

Diterpeny obsahují čtyři tyto jednotky, *triterpeny* mají navázaných šest izoprenových jednotek, *tetraterpeny* osm a *polyterpeny* velký počet.¹⁰

2.4.2 Vybrané rostliny a silice v nich obsažené

Hovoříme-li o vonných silicích, které rostlina obsahuje, pak nikdy nemluvíme pouze o jedné chemické látce. Vždy se jedná o směs chemických individuí, kterých může být v rostlině i několik desítek. Tato práce nerozebírá každou chemickou látku, která je ve vonných silicích té dané rostliny obsažena. V práci je popsáno jen několik vybraných látek pro konkrétní rostliny. Zpravidla jsou to ty látky, které se v rostlině vyskytují ve větším množství.

Obsah a množství jednotlivých chemických individuí v esenciálním oleji rostlin je závislý na typu rostliny, geografickém regionu, kde se bylina vyskytuje, na stáří rostliny, na metodě usušení a také na typu procesu, kterým je olej získáván. Odlišné složení esenciálního oleje stejné rostliny může být ovlivněno ekotypem, dále přírodními podmínkami jako je teplota, vlhkost nebo roční období.

Přehled chemických látek obsažených v esenciálním oleji mnou vybraných rostlin je uveden v následující tabulce. Jedná se o takové chemické látky, které jsou v rostlinách obsažené ve větší míře. Chemická individua, která rostliny obsahují jen v nepatrném množství, jsou zde zanedbávány. Tato data jsem čerpala z literatury. Vzorce, struktura a vlastnosti těchto látek budou podrobněji popsány v experimentální části.

Tab. I: Přehled hlavních vonných složek obsažených ve vybraných rostlinách⁴

Rostlina	Latinský název	silice
Jasmín obecný	<i>Jasminum officinale</i>	metyl antranilát
		indol
		benzyl alkohol
		linalool
		skatol
Růže stolistá	<i>Rosa centifolia</i>	citronellol
		geraniol
Levandule lékařská	<i>Levandula officinalis</i>	kafr
		linalool
		citronellol
		linalyl acetát
		borneol
Meduňka lékařská	<i>Mellisa officinalis</i>	citronellal
		citronellol
		citral
		geraniol
Máta peprná	<i>Mentha piperita</i>	mentol
Šalvěj lékařská	<i>Salvia officinalis</i>	eukalyptol
		borneol
		thujon
Mateřídouška obecná	<i>Thymus vulgaris</i>	thymol
		karvakrol
		cymol
		terpineol
Tymián obecný	<i>Thymus vulgaris</i>	thymol
		karvakrol
		borneol
		geraniol
Dobromysl obyčejná	<i>Origanum vulgare</i>	thymol
		karvakrol
Pomeranč	<i>Citrus sinensis</i>	d-limonen
Citron	<i>Citrus limon</i>	d-limonen

3. Experimentální část

Teoretická část byla ukončena přehledem konkrétních vonných látek obsažených v esenciálním oleji vybraných rostlin. Experimentální část na toto navazuje. Jsou zde rozebrány a vymodelovány struktury těchto látek, dále jsou zde popsány jejich vlastnosti. Z literatury byly také prostudovány jejich antibakteriální vlastnosti a také, jak toxické mohou tyto látky být.

V experimentální části se zabývám souvislostí vlastností těchto látek v závislosti na metodách, které jsou k jejich separaci z rostlin využity, a je zde také zdůvodněno, proč jsou tyto metody nejvhodnější.

Experimentální část předchází části praktické, ve které byly provedeny konkrétní experimenty, které se zabývaly samotnou separací a následnou identifikací jednotlivých složek. V části praktické bylo tedy vycházeno z poznatků, které byly získány z teoretické a experimentální části.

3.1 Vzorce a struktura studovaných látek

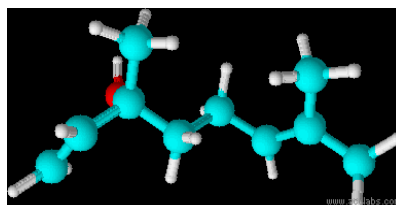
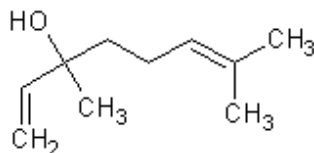
K získání základních informací o tom, jaké látky rostliny obsahují, mi posloužily základní internetové zdroje. Pomocí nich jsem si sestavila klíčová slova, která mi posloužila k hledání v chemických databázích, kde jsou o esenciálních olejích a látkách, které jsou v nich obsažené, podrobnější informace. Pro nalezená chemická individua jsem si vytvořila a optimalizovala vzorce.

Všechny níže uvedené vzorce byly tvořeny za pomoci programu pro tvorbu chemických molekul ACD/ChemSketch 12.0.

3.1.1 Jasmín obecný (*Jasminum officinale*)

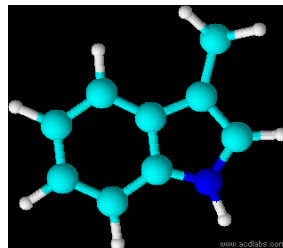
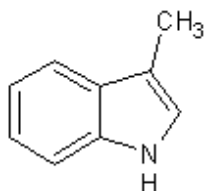
Květy jasmínu obsahují jedny z nejprchavějších a nejtěkavějších silic, proto výroba vonné esence z jasmínu patří k těm finančně nejnáročnějším. Z vonných látek jsou v jasmínu ve větším množství zastoupeny terpeny: *linalool*, *skatol* a *indol*. Z dalších látek to je *benzyl alkohol*.⁴

- Linalool (3,7-dimetylokta-1,6-dien-3-ol):



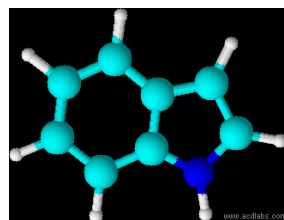
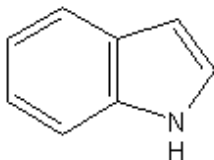
Obr. 17: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec linaloolu

- Skatol (3-metyl-1H-indol):



Obr. 18: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec skatolu

- Indol (1H indol):

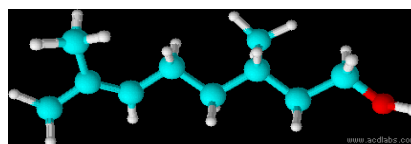
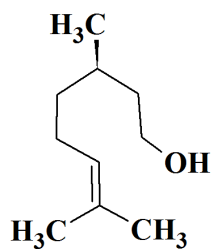


Obr. 19: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec indolu

3.1.2 Růže stolistá (*Rosa centifolia*)

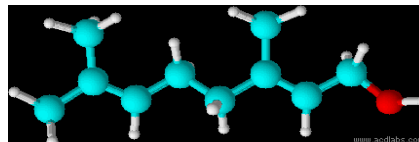
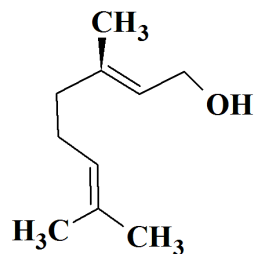
Hlavními složkami esenciálního oleje této okrasné rostliny jsou *citronellol* a *geraniol*. V menší míře se dále v růžích vyskytují *linalool*, *citral* a *nerol*.⁴

- Citronellol (3,7-dimetylokt-6-en-1-ol):



Obr. 20: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec citronellolu

- Geraniol (2E-3,7-dimetylokta-2,6-dien-1-ol):

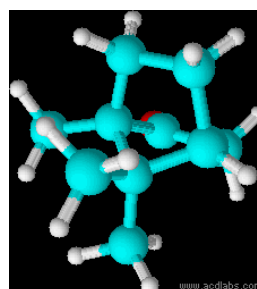
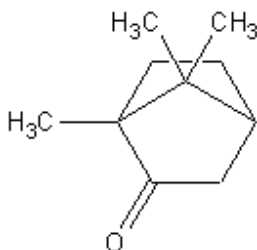


Obr. 21: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec geraniolu

3.1.3 Levandule lékařská (*Levandula officinalis*)

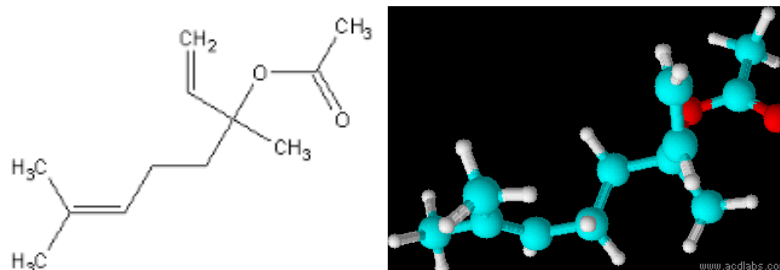
Hlavní podíl vonné silice této nádherně vonící fialové byliny tvoří *kafr*, *linalool*, *citronellol*, *linalyl acetát* a *borneol*. Vzorec citronellolu již uvedený u předešlé růže. Struktura linaloolu je vymodelovaná u jasmínu.⁴

- Kafr (1R,4R-1,7,7-trimetylbicyclo(2,2,7)heptan-2-on):



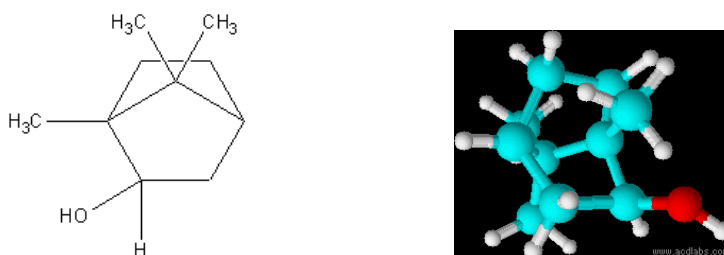
Obr. 22: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec kafru

- Linalyl acetát (3,7-dimetylokta-1,6-dien-3-yl acetát)



Obr. 23: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec linalyl acetátu

- Borneol (1S,2S,4R-1,7,7-trimetylbicyclo(2,2,7)heptan-2-ol):

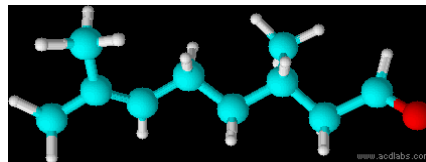
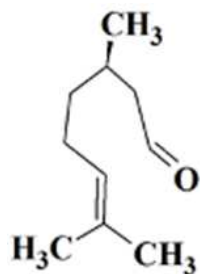


Obr. 24: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec borneolu

3.1.4 Meduňka lékařská (*Mellisa officinalis*)

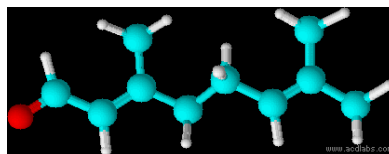
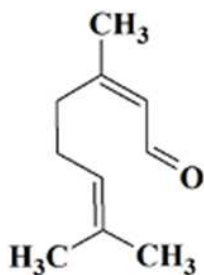
Vonné silice meduňky jsou bohaté na monoterpenické alkoholy a aldehydy: *citronellal*, *citronellol*, *geraniol* a *citral*. Struktura citronellolu je uvedena u růže, stejně tak struktura geraniolu.⁴

- Citronellal (3S-3,7-dimetylokt-6-enal):



Obr. 25: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec citronellalu

- Citral (2E-3,7-dimetylokt-2,6-dienal):

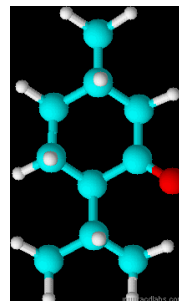
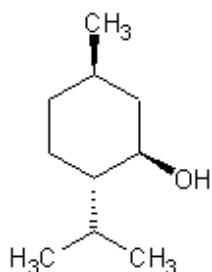


Obr. 26: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec citralu

3.1.5 Máta peprná (*Mentha piperita*)

Esenciální olej máty peprné obsahuje celou řadu monoterpenů a seskviterpenů. Avšak tato rostlina obsahuje nejvyšší podíl účinné látky- monoterpenu s názvem *mentol*.⁴

- Mentol (2R,5S-5-metyl-2-(propan-2-yl)cyklohexan):

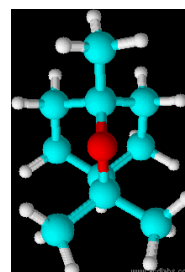
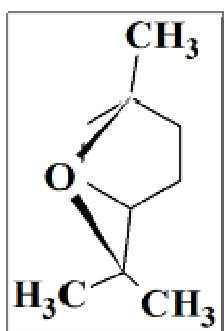


Obr. 27: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec mentholu

3.1.6 Šalvěj lékařská (*Salvia officinalis*)

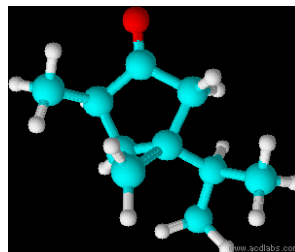
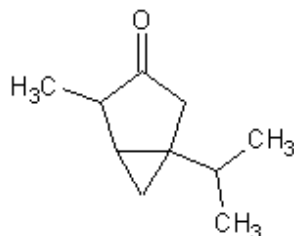
Významnou část silice šalvěje tvoří vedle *eukalyptolu* dále *thujon* a *borneol*. Struktura borneolu je uvedená u levandule.⁴

- Eukalyptol (1S,2S-1,3,3-trimetyl-2-oxabicyclo-2,2,2- oktan):



Obr. 28: schematický a 3D optimalizovaný vzorec eukalyptolu

- Thujon (1R,4R,5S-4-metyl-1-(propan-2-yl)bicyclo(3,1,0)hexan-3-on):

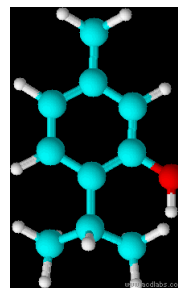
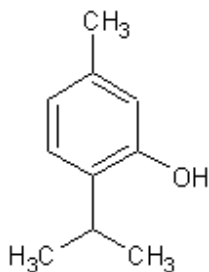


Obr. 29: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec thujonu

3.1.7 Mateřídouška obecná (*Thymus vulgaris*)

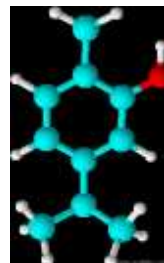
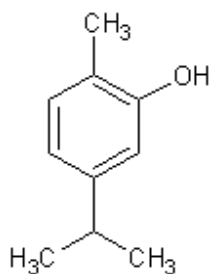
Mateřídoušková silice se skládá převážně z monoterpenů, z nichž jsou nejvíce zastoupeny: *thymol*, *karvakrol*, *terpineol* a *cymol*. Mateřídouška patří do stejné čeledi jako dobromysl a tymián, proto thymol a karvakrol jsou také hlavními monoterpeny zastoupenými v esenciálním oleji dobromysli a tymiánu.⁴

- Thymol (5-metyl-2-(propan-2-yl)fenol):



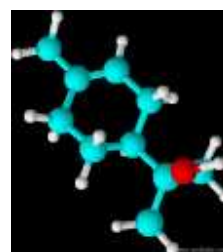
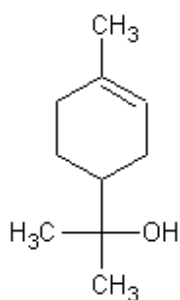
Obr. 30: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec thymolu

- Karvakrol (2-metyl-5-(propan-2-yl)fenol):



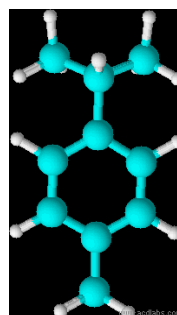
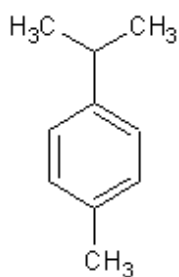
Obr. 31: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec karvakrolu

- Terpineol (2((1S)-4-methylcyklohex-3-en-1-yl)propan-2-ol):



Obr. 32: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec terpineolu

- Cymol (1-metyl-4-(propan-2-yl)benzen):



Obr. 33: Schematický a 3D optimalizovaný vzorec cymolu

3.1.8 Tymián obecný (*Thymus vulgaris*)

Silice tymiánu obsahuje stejně jako ta mateřídoušková *karvakrol* (Obr. 31) a *thymol* (Obr. 32). Dále jsou v ní ještě zastoupeny *borneol* (Obr. 24) a *geraniol* (Obr. 21).⁴

3.1.9 Dobromysl obyčejná (*Origanum vulgare*)

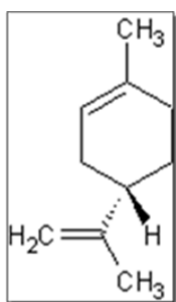
Hlavními chemickými individui, která jsou v esenciálním oleji oregana zastoupeny v největším množství, jsou *thymol*, *karvakrol* a *terpineol*, jejichž struktura byla zmíněna u mateřídoušky.⁴

3.1.10 Citron, pomeranč (*Citrus lemon*, *citrus sinensis*)

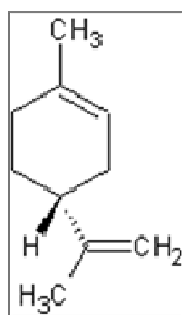
Oba tyto příbuzné citrusové plody jsou bohaté na monoterpeny, především pak na *d-limonen*. V citronu je obsažen S-limonen naopak v pomeranči se vyskytuje R-limonen.¹¹

Dále jsou v nich zastoupeny *citral*, *citronellal*, *terpinen* a další látky. Na vonné silice je nejbohatší zejména kůra těchto plodů.⁴

- D - limonen (4S-1-metyl-4-(prop-1-en-2-yl)cyklohexan):



Obr. 34: Schematický vzorec S-limonenu v citronu



Obr. 35: Schematický vzorec R-limonenu v pomeranči

3.2 Vlastnosti studovaných látek

Ze strukturních vzorců uvedených v kapitole 3.1 je patrné, že vonné silice jsou látky, které si jsou svým chemickým složením velmi podobné. Často se jedná o látky, které se liší jen funkční skupinou nebo obsahují stejnou funkční skupinu, avšak liší se pouze její polohou na centrálním atomu. Tato nepatrná odlišnost však má pro rostliny velký význam - ovlivňuje jejich fyzikální vlastnosti.

Podíváme-li se na vzorce látek, které jsou obsažené v citrusových plodech (*Obr. 34 a 35*), tak vidíme, že se v obou případech jedná o stejnou chemickou látku: d-limonen, ale vždy o jiný izomer. Zatímco v pomerančové kůře je obsažen R - limonen, citronová kůra obsahuje S - limonen. Obě tyto látky představují hlavní komponenty těchto plodů. Nepatrná odchylka v chiralitě látek znamená zcela jiné vlastnosti. Vždyť i vůně citronové a pomerančové kůry jsou zcela jiné.

Látky, lišící se polohou funkční skupiny, jsou thymol a karvakrol (*Obr. 30 a 31*), které jsou obsažené v květech mateřídoušky. Tato nepatrná změna polohy funkční skupiny však opět znamená zcela jiné fyzikální vlastnosti dané látky.

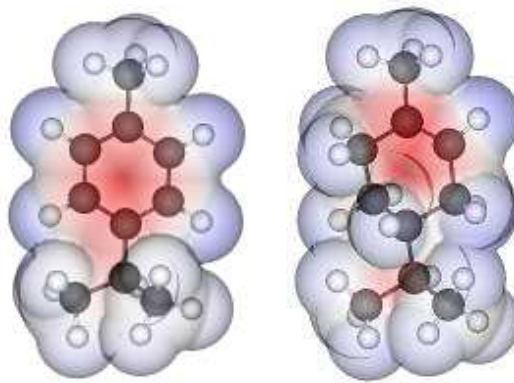
Další odlišnost ve vzorcích silic může spočívat v poloze násobné vazby, popřípadě v počtech násobných vazeb. Porovnáme-li citronellol s geraniolem (*Obr. 20 a 21*), což jsou látky obsažené v meduňce lékařské, tak vidíme, že geraniol je látka, která obsahuje o jednu násobnou vazbu víc.

Díky nepatrným rozdílům ve struktuře a jiným fyzikálním vlastnostem těchto studovaných látek jsme schopni odvodit, jaké metody budou nejvhodnější pro separaci těchto esenciálních vonných látek.

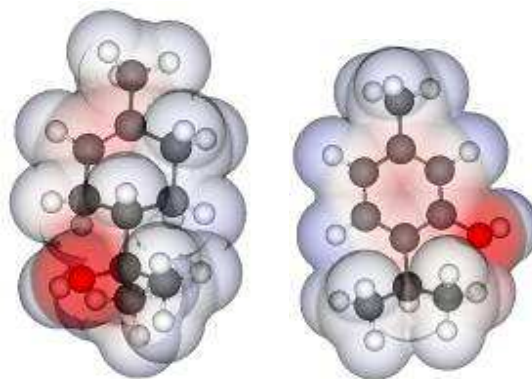
Vonné látky jsou sloučeniny převážně olejovité povahy. Jedná se o nestálé tekavé sloučeniny. Často se stane, že při sušení vonné esence z rostlin vyprchají. Proto je tedy vhodnější používat k separacím rostliny čerstvé, popřípadě sušené, avšak ty musí být velmi dobře uskladněné, aby z nich veškeré vonné fragmenty nevyprchaly. V následujících podkapitolách jsou popsány vybrané fyzikální vlastnosti těchto látek, které pomohou určit vhodné metody pro jejich separaci z rostlin.

3.2.1 Polarita

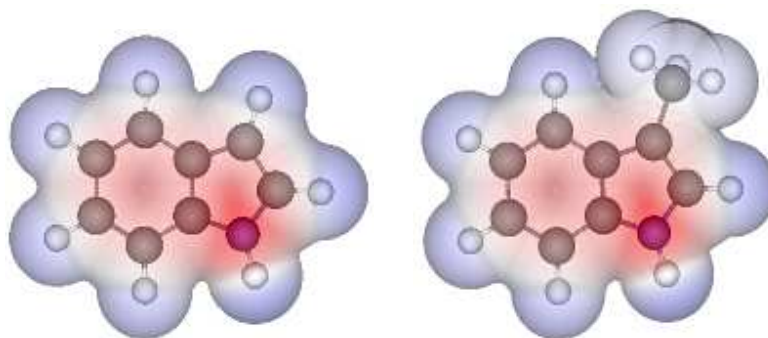
Polarita studovaných látek je jedním z důležitých faktorů pro určení vhodného rozpouštědla pro tyto látky. Pro zjištění polarity v molekulách jsem v první řadě využila modelů struktury znázorněných v programu ViewerLite 5,0 firmy Accelrys.²⁷ V tomto programu je znázorněna vyšší elektronová hustota červenou barvou, snížená elektronová hustota v molekule barvou modrou. Z obrázků modelů si můžeme udělat představu, zda může být molekula polární – tedy může-li se na ní projevit dipól.



Obr. 36. Prakticky nepochární molekuly uhlovodíků cymenu a d-limonenu



Obr. 37: Molekuly s dipólem díky –OH skupině: thymol a terpineol



Obr. 38: Molekuly s možností dipólu díky –NH skupině: indol a skatol

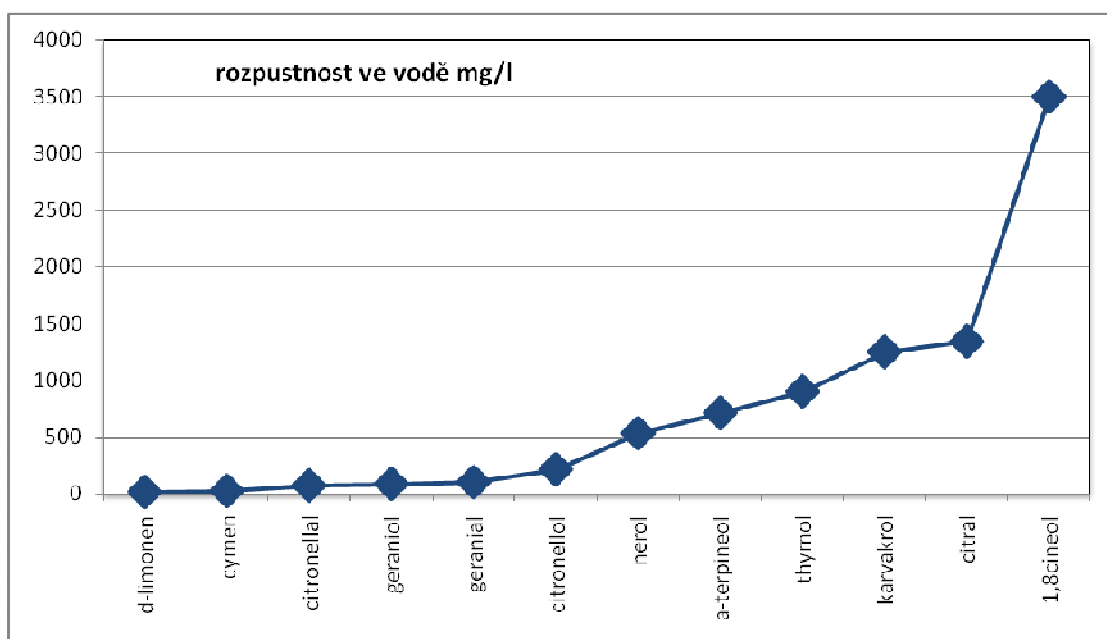
Pomocí programu ChemSpider²⁸, který je přímo navázán na ACD/ChemSketch 12.0, můžeme zjistit velikost polární části povrchu molekuly. Přesnost těchto hodnot však postačuje jen pro prezentace studentům, nikoliv pro přesnější porovnání polarity molekul. Přesnější výpočty přímých hodnot dipólových momentů molekul můžeme získat pomocí programů molekulárního modelování např. ChemOffice Chem3D.²⁹

3.2.2 Rozpustnost ve vodě

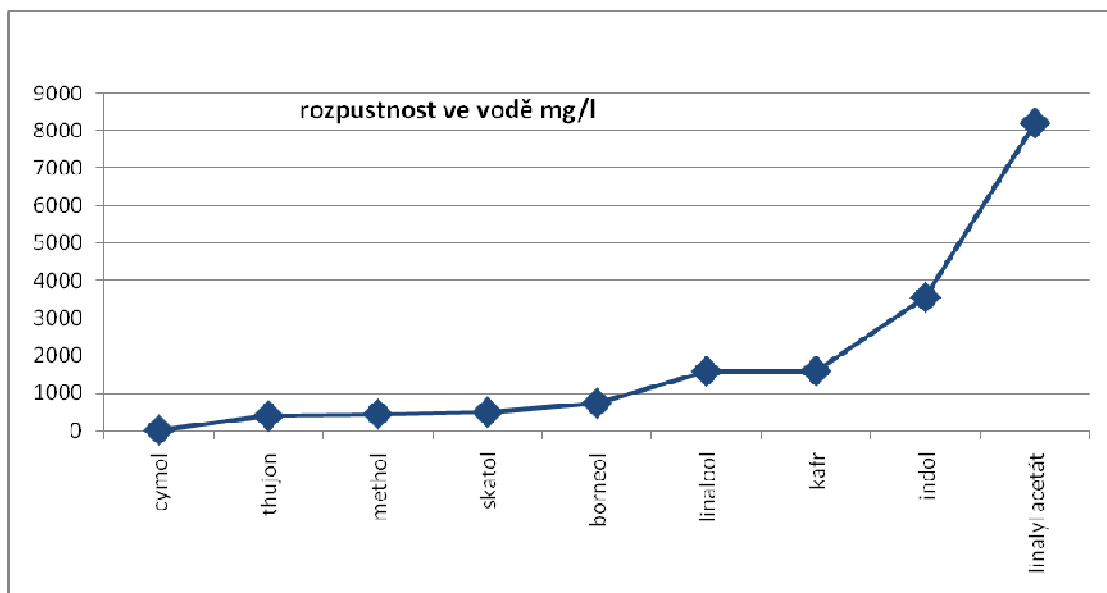
Rozpustnost je obecně vlastnost látek rozpouštět se v rozpouštědle. Rozpustnost látky v daném rozpouštědle je dána především polaritou rozpouštědla a rozpouštěné láky. Obecně platí, že polární látky se rozpouštějí v polárních rozpouštědlech a nepolární látky se naopak rozpouštějí v těch nepolárních. Míru rozpustnosti lze charakterizovat třemi stupni: dobře rozpustná, špatně rozpustná a nerozpustná látka v daném rozpouštědle. Míru rozpustnosti lze také vyjádřit kvantitativně jako množství látky v určitém množství rozpouštědla, které za daných podmínek přejde do roztoku.¹³

Následující grafy udávají, kolik mg dané látky se rozpustí v 1 dm³ vody.

Graf I: Rozpustnost vonných silic ve vodě (část 1.)



Graf I: Rozpustnost vonných silic ve vodě (část 2.)

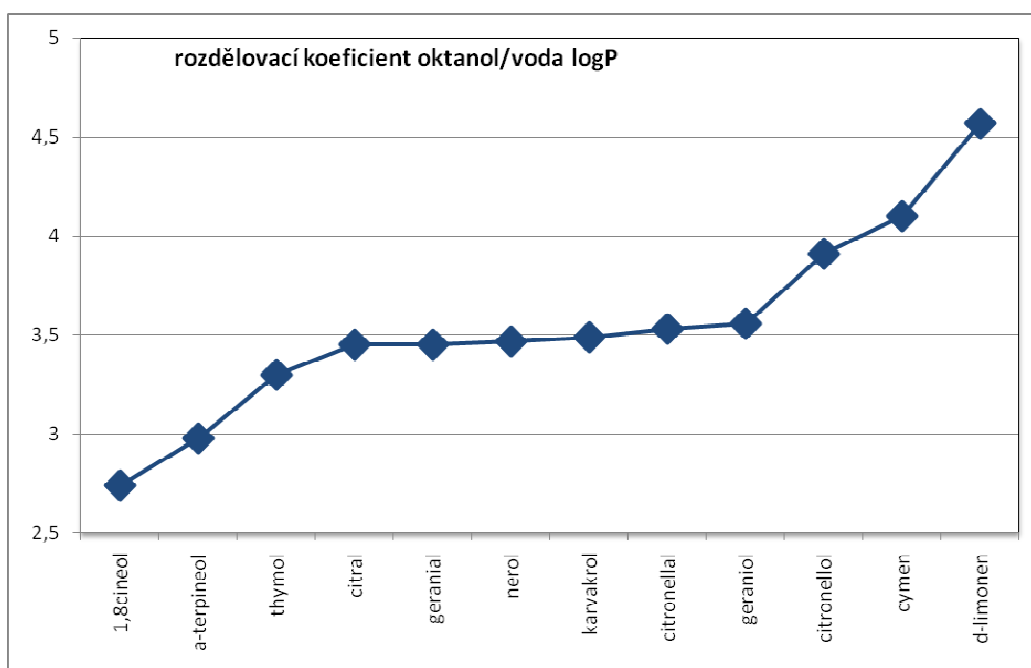


Tyto grafy nám říkají, že čím vyšší hodnota pro danou látku, tím snáze je tato látka rozpustná ve vodě. Látky s vyšší hodnotou jsou hydrofilní a tedy i více polární, než látky s hodnotami nízkými. Voda je polární rozpouštědlo, proto se v ní budou snáze rozpouštět ty sloučeniny, které obsahují ve své molekule vázaný O_2 nebo OH skupinu. Z tohoto je možné vyvodit, že ty látky, které jsou ve vodě snadněji rozpustné, budou snadněji extrahovatelné vodou. K jejich separaci bude tedy možné využít **vodní extrakci**. Vůbec nejvíce ve vodě rozpustnou látkou je linalyl acetát, což je látka obsažená v levanduli lékařské. Dále je dobře ve vodě rozpustný 1,8-cineol. Tato vonná silice se vykytuje v eukalyptu.

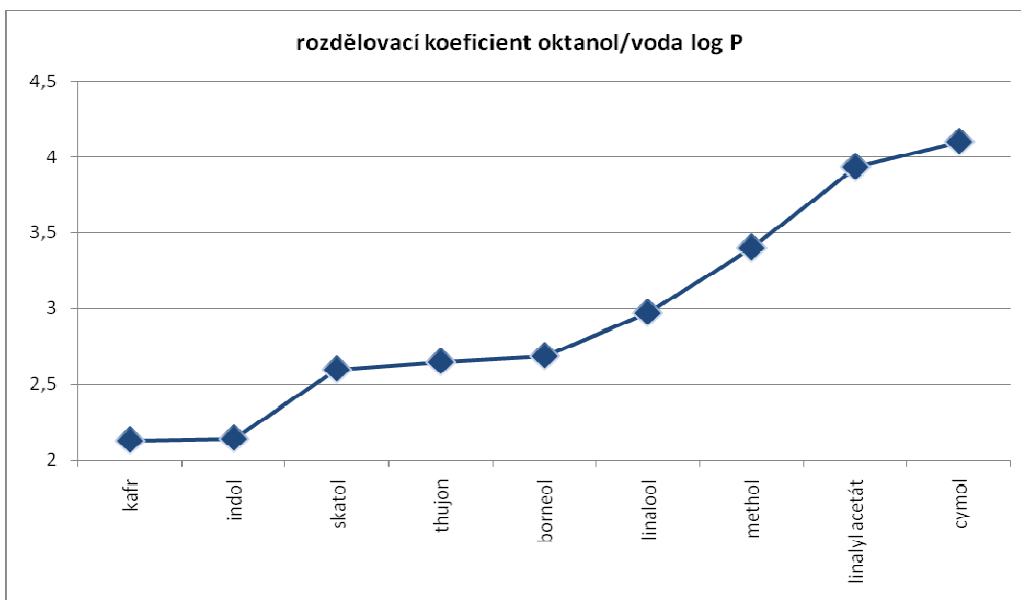
3.2.3 Rozdělovací koeficient oktanol/ voda- log P

Rozdělovací koeficient n-oktanol/voda je definován jako poměr rovnovážných koncentrací rozpuštěné látky ve dvoufázovém systému dvou omezeně mísitelných rozpouštědel: n-oktanol a voda.¹⁴ Rozdělovací koeficient je bezrozměrné číslo, obvykle vyjádřené v logaritmickém tvaru log P.

Graf II: Rozdělovací koeficient oktanol/ voda- log P (část 1.)



Graf II: Rozdělovací koeficient oktanol/ voda- log P (část 2.)



Vyšší hodnota rozdělovacího koeficientu oktanol/ voda znamená, že je daná látka lépe rozpustná v nepolárních rozpouštědlech. Vysoký log P mají látky nepolární. Látky s vysokým log P jsou hydrofobní a zároveň tedy lipofilní. Jsou dobře rozpustné v následujících rozpouštědlech: olej, hexan, atd. Z grafů I a II zároveň vyplývá, že látky s vysokým log P jsou látkami, které jsou jen omezeně rozpustné ve vodě. Nejvíce lipofilními látkami z mnou vybraných vonných silic jsou: d - limonen (citrusové plody) a cymol (mateřídouška).

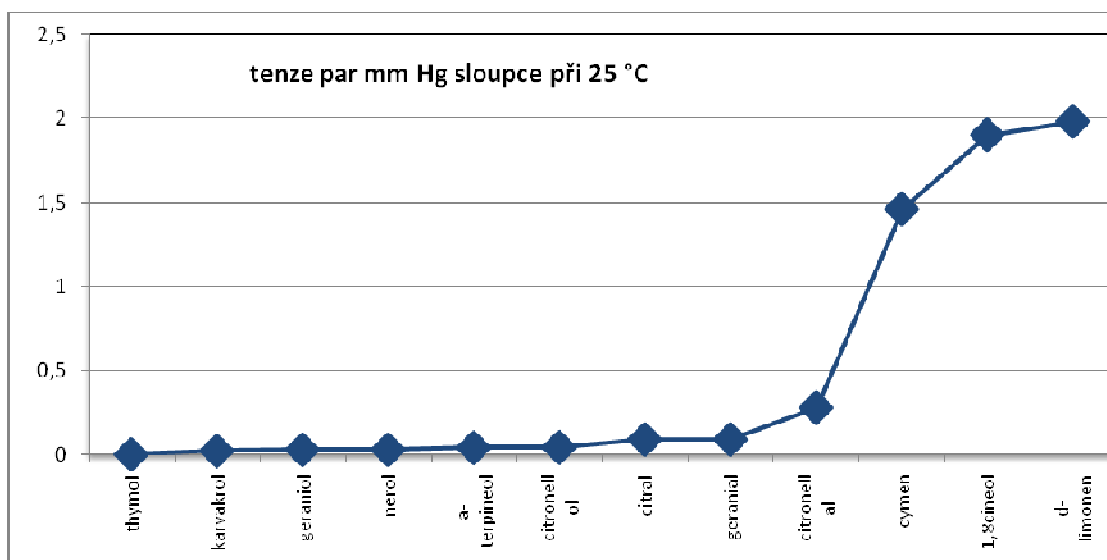
3.2.4 Tenze páry- mm Hg sloupce při 25 °C

Uvolňování částic z povrchu kapaliny (vypařování) je děj, který více či méně intenzivně probíhá při každé teplotě. Tenze par (tlak par) nad kapalinou je funkcí teploty, se vzrůstající teplotou uvedený tlak roste.

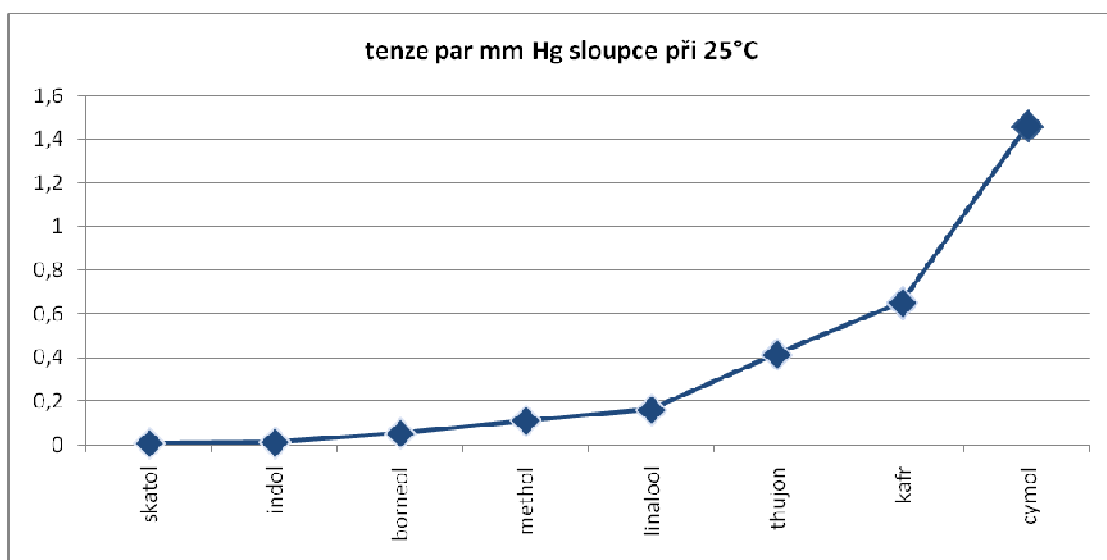
Teplota, při níž tenze nasycené páry dosáhne vnějšího tlaku, se nazývá teplota (bod) varu. Bod varu je důležitá fyzikální konstanta látky, závisí na relativní molekulové

hmotnosti, polaritě látky, možnosti tvorby vodíkových můstků apod. Podle bodu varu posuzujeme tzv. těkavost látky.¹⁵

Graf III: Tenze par- mm Hg sloupce při teplotě 25 °C (část 1.)



Graf III: Tenze par- mm Hg sloupce při teplotě 25 °C (část 2.)



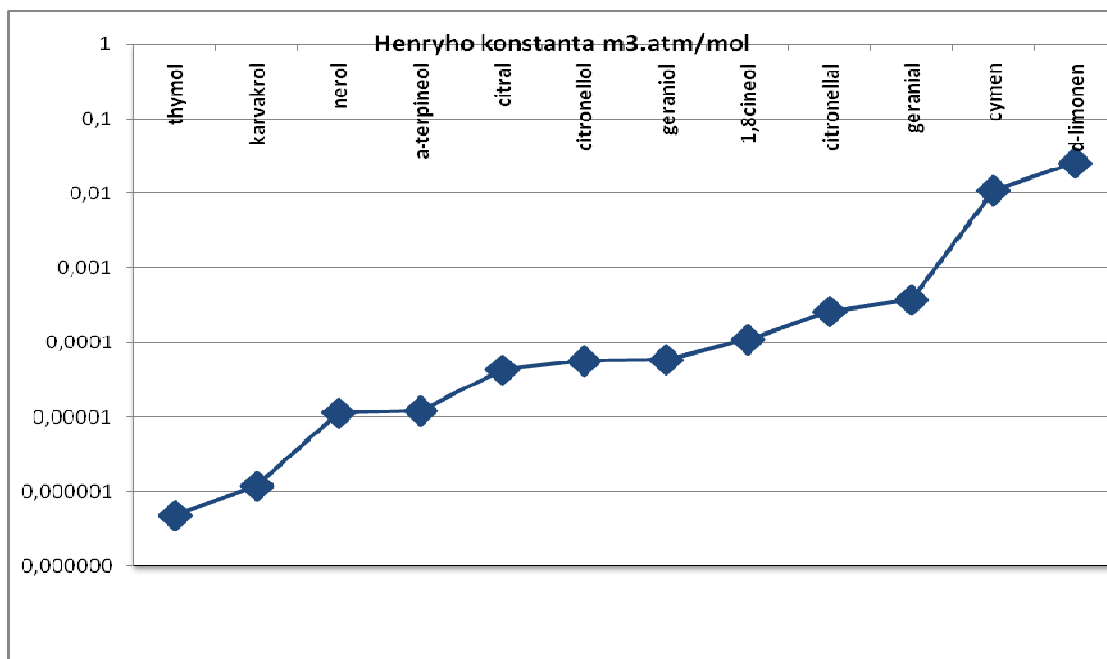
Vyšší hodnota tenze par - mm Hg při 25°C odpovídá nižšímu bodu varu látky. Sloučeniny s nejvyšší hodnotou tenze par mají zároveň nejnižší bod varu. Jedná se o látky, které jsou více těkavé. K jejich separaci z rostlin bude vhodné využít **destilaci s vodní parou** a to díky jejich nižšímu bodu varu než u látek ostatních. Body varu obecně se těchto vonných látek pohybují v rozmezí 150 - 250 °C. Jako nejvíce těkavé se podle grafů jeví cymol (cymen) a d - limonen, tedy látky obsažené v mateřídoušce a citrusových plodech. K jejich separaci bude tedy vhodné využít vodní destilaci.

3.2.5 Henryho konstanta

Henryho konstanta je fyzikální veličina závislá na teplotě. S rostoucí teplotou se její velikost snižuje.

Grafy vyjadřují Henryho konstanty pro vonné látky. Při jejich výpočtu bylo vycházeno z chemické databáze SRC.

Graf IV: Henryho konstanta $m^3 \cdot \text{atm} / \text{mol}$ (část 1.)



Vyšší hodnota Henryho konstanty nám říká, že tato látka více těká s vodní parou. Je tedy těkavější než látky ostatní. Látky, které mají nejvyšší hodnoty Henryho konstanty, jsou zároveň látkami s nejvyššími hodnotami tenzí par a tedy s nejnižšími body varu. Tudíž k jejich separaci z rostlin bude nejvhodnější **vodní destilace**. Jedná se o látky d - limonen a cymen (cymol), tedy látky z citrusových plodů a z mateřídoušky.

3.3 Toxicita a antibakteriální vlastnosti studovaných látek^{16,17,18,23, 26}

Esenciální oleje jsou přírodní produkty vonných rostlin, které mají široké využití v nejrůznějších oblastech. Jejich vlastností se využívá v medicíně, farmacii, potravinářství nebo v kosmetickém průmyslu. Používají se jako aditiva v kulinářství, ve farmacii se používají jako přísady do léčiv, v kosmetickém průmyslu mají využití zejména v parfumerii, kde jsou pro svou vůni součástí parfémů.³⁰

Mimo těchto odvětví jsou esenciální oleje využívány v dalších oblastech pro své antioxidační a antibakteriální vlastnosti. Byly také provedeny různé studie, které se zabývaly zkoumáním těchto látek z hlediska jejich využití jako přírodních herbicidů, pesticidů či insekticidů.

3.3.1 Antioxidační vlastnosti¹⁶

Antioxidanty jsou látky, které neutralizují chemicky aktivní produkty metabolismu, jako jsou volné radikály, které mohou zničit nebo poškodit naše tělo. Rostlinné fenoly nebo polyfenoly, které mohou být potencionálními antioxidanty, hrají významnou roli při prevenci rakoviny a dalších nemocech jako jsou nemoci kardiovaskulárního systému. Toto vědci dokázali výzkumem prováděným na čeledi *Thymus*, do které patří mateřídouška, tymián a dobromysl. V tomto případě se jednalo o rod *Thymus caramanicus*. 20 g usušených částí rostliny bylo podrobena extrakci v Soxhletově přístroji spolu s 400 ml etanolu po dobu osmi hodin. Produkt extrakce byl po té analyzován plynovým chromatogramem na jednotlivé složky. Bylo zjištěno a identifikováno 15 složek esenciálního oleje této rostliny. Nejvíce byly zastoupeny: karvakrol (85,9 %), tymol (3,33 %), p-cymen (3,16 %) a borneol (1,33 %). Následnými pokusy po té bylo zjištěno, že fenolické monoterpeny - tymol a karvakrol mají vysoký DPPH pozastavující potenciál. Což je důvodem, proč jsou přidávány jako aditiva do potravin. Je to tedy díky jejich antioxidačním vlastnostem, které chrání naše tělo před škodlivými nemocemi.¹⁶

3.3.2 Pesticidy, herbicidy a insekticidy¹⁷

Rod *Origanum* čítá více než 900 druhů. Oregano bylo tradičně používané pro své antiseptické a uspávací vlastnosti- sedativum. Studie, provedená na zemědělské univerzitě v Turecku, se zabývala na působení komponentů obsažených v *Origanum acutidens* proti plísním a hmyzu. K separaci vonných látek obsažených v tomto druhu byla použita destilace s vodní parou. 500 g usušeného materiálu bylo podrobena destilaci po dobu 4 hodin. Bylo získáno 0,6 % esenciálního oleje. Následovala analýza jednotlivých složek. Dle analýzy byl nejvíce zastoupen karvakrol, linalool a borneol. Tyto látky pak byly testovány na herbicidní a pesticidní účinky.

Vývoj přírodních herbicidů a pesticidů může pomoci zmenšit negativní vliv syntetických látek. Přírodní pesticidy a herbicidy mohou být velmi efektivní, výběrové a méně toxické pro životní prostředí. Nicméně musí být provedeny ještě další studie na bezpečnost jejich používání, množství, a zda neškodí plodinám, než budou moci být pro tyto vlastnosti oficiálně používány.¹⁷

3.3.3 Antibakteriální vlastnosti¹⁸

Těmito vlastnostmi esenciálních olejů se mimo jiné zabývala nedávná studie prováděná na vysoké škole v Dublinu, v Irsku. Byly zkoumány antibakteriální vlastnosti karvakrolu a thymolu, což jsou hlavní složky obsažené ve vonných silicích dobromysli, mateřídoušky a tymiánu. Pokusy byly prováděny s bakteriemi rodu *Escherichia coli*. Studie ukázala, že karvakrol a tymol mají významné antimikrobiální a antibakteriální vlastnosti proti tomuto rodu bakterií. Tyto látky byly v boji proti těmto bakteriím poměrně úspěšné. Záleží však na stadiu vývoje bakterií, s jejich růstem antibakteriální vlastnosti thymolu a karvakrolu klesaly. Studie ale dokázala, že tyto látky mohou být po dalších testech využité jako přírodní složky, které jsou schopné hubit bakterie.¹⁸

3.3.4 Antimutagenní vlastnosti²³

Mnoho vědců se zabývá studiem antimutagenních vlastností specifických složek extraktů esenciálních olejů rostlin jako jsou polyfenoly a triterpeny. Mezi rostliny, jejichž esenciální oleje jsou používány jako součásti léčiv, patří levandule lékařská. Levandulový olej je zejména používán v aromaterapii jako relaxační a uspávací prostředek. V minulosti byl také využíván pro své antiseptické účinky.

Studie provedená roku 2005 v Itálii prokázala, že komponenty obsažené v levanduli, nemají mutagenní účinky. Naopak prokázala, že levandulový olej chrání proti mutagenitě. Tento olej pravděpodobně chrání proti mutagennímu bujení tím, že jej sám pozastavuje a že tedy nepřispívá k jeho zastavení tím, že by aktivoval činnost některého z enzymů.²³

3.3.5 Toxicita vonných látek²⁶

Míru toxicity dané látky nám určuje mimo jiné LD₅₀, což je v toxikologii označení pro smrtelnou dávku dané substance. Říká nám jaké množství dané látky je po podání dávkou smrtelnou pro určitého živočicha v 50 %. Jedná se o množství látky, po kterém uhynulo 50 % živočichů po expozici do 24 hodin. Udává se v mg/kg živé váhy.²⁶

Tab. II: Tabulka toxicity vybraných vonných látek uvedená v mg/kg živé váhy.^{19,20, 21}

silice	LD₅₀ orálně(krasy)
thujon	192
borneol	500
karvakrol	810
tymol	980
indol	1000
cymol	2130
citronellal	2420
eukalyptol	2480
linalool	2790
mentol	3300
citronellol	3450
skatol	3450
geraniol	3600
terpineol	4300
limonen	4400
citral	4960
kafr	5000
linalyl acetát	9018

Z tabulky je patrné, že nejškodlivější látkou z vybraných vonných silic je thujon, tedy látka vyskytující se v šalvěji lékařské. Thujon se totiž také mimo jiné využívá jako nervový jed a je součástí některých alkoholových nápojů. Zejména je pak obsažen v absintu. Mimo šalvěje lékařské se thujon také vyskytuje v pelyňku pravém. Otrava zevně se projevuje podrážděním pokožky- při styku se šťávou. Vnitřně se projevuje podrážděním žaludku, střev a křečemi. Ve 20. Století byly přípravky s thujonem zkoušeny jako insekticidy.²²

Obecně většina vonných látek má toxikologické vlastnosti. Závisí vždy na množství, ve kterém se do organismu dostanou a také jakou cestou - zda požitím, kůží nebo nitrožilně. Malá množství vonných látek mohou být pro organismus lékem, naopak

velká množství těchto látek mohou být zdraví škodlivá - způsobují podráždění pokožky, dýchací, zažívací či trávicí problémy.

4. Laboratorní práce

4.1 Separace vonných látek

Po sesbírání všech výše uvedených poznatků a po jejich prostudování následuje část laboratorní, ve které bylo z těchto poznatků vycházeno. Postupně jsem odzkoušela všechny separační metody popisované v kapitole 2.3. Pouze metoda enfleurage nebyla do laboratorních pokusů zařazena. Experimenty byly prováděny ve dvou etapách: jaro 2010 a podzim 2010. Byly k nim využity všechny vybrané rostliny vyjma růží a jasmínu. Tyto rostliny nebyly využity z toho důvodu, že silice, které jsou v nich obsažené, jsou nejprchavější, a proto by byl výtěžek jejich silic velmi malý. Aby byly získány z těchto rostlin nějaké větší výtěžky, bylo by třeba mít tyto rostliny ve velkém množství a to jsem bohužel k dispozici neměla. Růže a jasmín jsou tedy v této diplomové práci zařazeny pouze do teoretické a experimentální části. Byly zařazeny z toho důvodu, že to jsou jedny z nejčastějších přísad parfémů a o jejich silicích je hovořeno už v dávné minulosti. K separaci vonných látek z těchto rostlin by byla vhodná metoda enfleurage, pokud bych měla k dispozici dostatek čerstvých květů. Princip separační metody enfleurage je popsán v kapitole 2.3.1.

V laboratořích byly prakticky odzkoušeny destilace vodou, extrakce za studena, extrakce v Soxhletově přístroji a lisování. Směsi vonných látek, které byly vyextrahovány do rozpouštědla při extrakci za studena, byly dále podrobeny analýze plynovou chromatografií. O identifikaci jednotlivých složek touto metodou bude hovořeno v kapitole 4.2.

4.1.1 Destilace

Jako první metoda separace vonných látek z rostlin byla zkušena destilace. Pokusy s destilací jsem prováděla na jaře 2010. Jako rozpouštědlo jsem využívala destilovanou vodu. Voda je polární rozpouštědlo, takže ty vonné silice, které jsou látkami polárním, by měly být vodou snadno extrahovatelné. K destilaci vodou jsem měla k dispozici sušené listy máty, meduňky a sušený květ dobromysli.

- Destilace meduňky

Materiál a chemikálie: sušený list meduňky (*rok 2009*), destilovaná voda, NaCl

Pomůcky: destilační aparatura, Erlenmayerova baňka se zátkou

Postup:

- 20 g sušených listů meduňky jsem nadrtila a dala do varné baňky o objemu 500 ml. Listy jsem zalila 250 ml destilované vody a spustila jsem destilaci.
- Destilace probíhala po dobu 2,5 hodiny. Bylo vydestilováno 215 ml směsi destilované vody a silic. Destilát byl přelit do Erlenmayerovy baňky a vysolen NaCl do úplného nasycení roztoku.

Závěr: Po celou dobu destilace byly zřetelně cítit z destilátu vonné výpary, avšak vonné látky ani po vysolení NaCl ve směsi nebyly patrné. Výpary se spíše blížily senu, je tedy možné, že během sušení těkavější vonné látky z meduňky vyprchaly. Hlavní látkou zastoupenou ve vonném oleji meduňky je citronellal, tedy látka poměrně těkává (*graf III.*). Můžeme se tedy domnívat, že procesem sušení meduňka ztratila svůj hlavní vonný komponent.

- Destilace máty

Matriál a chemikálie: sušený list máty (*rok 2009*), destilovaná voda, NaCl

Pomůcky: destilační aparatura, Erlenmayerova baňka se zátkou

Postup:

- 20 g sušených listů máty jsem nadrtila a dala do varné baňky o objemu 500 ml. Listy jsem zalila 250 ml destilované vody a spustila jsem destilaci.
- Destilace probíhala po dobu 2 hodin. Bylo vydestilováno 205 ml směsi destilované vody a silic. Destilát byl přelit do Erlenmayerovy baňky a vysolen NaCl do úplného nasycení roztoku.

Závěr: Po celou dobu destilace byly opět cítit výpary vonných látek. Nicméně ani tentokrát se po vysolení směsi látkou NaCl neoddělila vrstva silic od vrstvy vody. Jako zdůvodnění se tedy nabízí, že sušením vyprchala většina vonných látek a destilací tedy přešlo do destilátu jen nepatrné množství vonných látek, proto tedy byly cítit jen výpary.



Obr. 39: Foto aparatury při probíhající destilaci máty

- Destilace dobromysli

Matriál a chemikálie: sušené květy dobromysli (*rok 2009*), destilovaná voda, NaCl

Pomůcky: destilační aparatura, Erlenmayerova baňka se zátkou

Postup:

- 15 g sušených květů dobromysli jsem nadrtila a dala do varné baňky o objemu 500 ml. Listy jsem zalila 150 ml destilované vody a spustila jsem destilaci.
- Destilace probíhala 1 hodinu. Bylo vydestilováno 100 ml směsi destilované vody a silic. Destilát zřetelně voněl po dobromysli a na stěnách baňky byly patrné mastné skvrny silic. Tento destilát byl přelit do Erlenmayerovy baňky a vysolen NaCl až do úplného nasycení roztoku. V uzavřené Erlenmayrově baňce byl destilát přenechán do 14.5.

Závěr: ani týdenní čekací doba však neukázala žádné prokazatelné výsledky. Směs vonných silic, která by se měla oddělit od destilované vody, nebyla v Erlenmayrově baňce patrná. Z těchto třech pokusů byl vyvozen závěr, že destilace vodou není příliš vhodná metoda pro separaci vonných látek z rostlin. K separaci navíc bylo využíváno sušených částí rostlin, které byly staré více jak půl roku. Sušením tedy většina vonných látek z rostlin vyprchala.

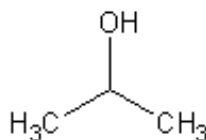
4.1.2 Extrakce

V období podzimu 2010 jsem prováděla nejrůznější pokusy extrakcí. Vyzkoušela jsem dva typy: extrakce za studena a extrakce v Soxhletově přístroji.

- Extrakce za studena

Extrakce za studena je separační metodou, kdy se části rostlin nechají po určitou dobu extrahovat ve vhodném rozpouštědle. Po tuto dobu přejde část vonných látek do rozpouštědla a tyto směsi jsou pak vhodné k identifikaci látek, které přešli do rozpouštědla, na plynovém chromatografu.

Jako rozpouštědlo byl zvolen isopropanol (2-propanol).



Obr. 40: vzorec isopropanolu

Isopropanol je sekundární alkohol. Je to bezbarvá, hořlavá kapalina, která rozpouští nepolární látky. Je tedy oproti vodě méně polárním rozpouštědlem. Voda je rozpouštědlo silně polární. Jelikož většina mnou studovaných vonných silic obsahuje ve své molekule vázanou jednu -OH skupinu, lze tedy předpokládat, že podle teorie „podobné se rozpouští v podobném“ budou tyto látky v isopropanolu dobře rozpustné.

Kromě růže a jasmínu byly extrakci za studena podrobeny všechny vybrané rostliny.

a) Materiál a chemikálie: sušený květ dobromysli, čerstvá meduňka a máta, isopropanol

Pomůcky: odměrný válec, 3 Erlenmayerovy baňky (V=500 ml), tyčinka

Postup:

- vzala jsem si tři Erlenmayerovy baňky. Do první jsem navázila 10 g sušeného květu dobromysli (léto 2010) a zalila jsem to 100 ml isopropanolu. Baňku jsem pevně uzavřela, aby vonné látky nevyprchaly a nechala jsem ji takto týden stát.
- Do druhé baňky jsem navázila 8,5 g lístků čerstvé meduňky a zalila jsem ji 100 ml isopropanolu. Opět jsem baňku uzavřela a nechala ji týden uzavřenou stát.
- Do třetí baňky jsem navázila 6 g čerstvých lístků máty a zalila jsem je 50 ml isopropanolu a také jsem ji nechala uzavřenou stát.



Obr. 41: Extrakce za studena dobromysli, máty a meduňky

b) Materiál a chemikálie: sušená česká a chorvatská levandule, isopropanol

Pomůcky: 2 Erlenmayerovy baňky ($V=500$ a 250 ml), odměrný válec

Postup:

- Záměrně sem si zvolila stejný druh rostliny, ale každou z jiného podnebí. Byla jsem zvědavá, jestli skutečně jiný geotyp má vliv na obsah vonných látek v rostlinách. To se prokáže při samotné identifikaci plynovou chromatografií.
- Stejně jako v předchozím pokusu jsem si navázila sušený materiál a zalila jsem ho isopropanolem. Bylo naváženo 10 g levandule z ČR a zalito 100 ml isopropanolu a 5 g levandule z HR a zalito 50 ml isopropanolu. Vzorky byly uzavřeny a ponechány louhovat.

Vzorky z předešlých dvou pokusů byly zaneseny na katedru mechatroniky a zde jsem z nich připravila vzorky vhodné k analýze. O samotné analýze pojednává kapitola 4.2.

c) Materiál a chemikálie: citronová a pomerančová, isopropanol

Pomůcky: 2 Erlenmayerovy baňky ($V=500$ ml), odměrný válec

Postup:

- 50 g čerstvé citronové kůry ze dvou citronů jsem zalila 100 ml isopropanolu a opět nechala louhovat několik dní. To samé jsem provedla s kůrou z pomerančů - bylo naváženo 65 g kůry z 1 a půl pomeranče a zalito 100 ml isopropanolu.



Obr. 42: extrakce za studena citrusové kůry

d) Materiál a chemikálie: sušený list šalvěže, sušená nat' mateřídoušky, čerstvý tymián, isopropanol

Pomůcky: 3 Erlenmayerovy baňky ($V=250$ ml), odměrný válec

Postup:

- Jelikož jsem neměla k dispozici šalvěž a mateřídoušku, tak jsem si tento materiál koupila ve specializované prodejně. Mateřídoušky a i šalvěže bylo naváženo po 10 g, zalito 100 ml isopropanolu a necháno týden. Čerstvého tymiánu bylo naváženo také 10 g, zalito 100 ml isopropanolu a také necháno týden uzavřené extrahovat.

Vzorky **c** a **d** byly extrahovány zhruba týden. Po té byly zaneseny na katedru mechatroniky a připraveny k analýze jednotlivých chemických látek.



Obr. 43: Extrakce za studena šalvěje, mateřídoušky a tymiánu

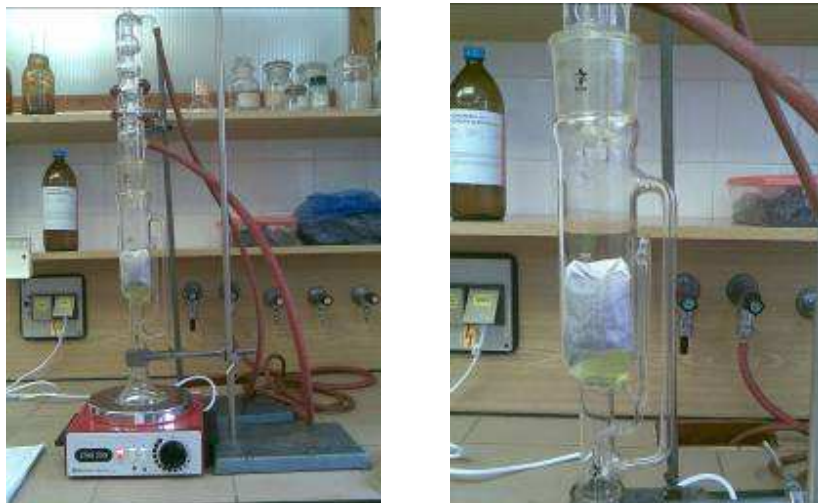
- Extrakce v Soxhletově přístroji

Materiál a chemikálie: sušená dobromysl, sušená levandule ČR a sušené listy meduňky, isopropanol

Pomůcky: Soxhletova aparatura, varné baňky, Erlenmayerovy baňky

Postup:

- Postupně jsem nechala podrobit extrakci v Soxhletově přístroji 9 g sušené dobromysli, 10 g sušené české levandule a 9 g sušených listů meduňky. Jako rozpouštědlo byl opět zvolen isopropanol. Na každou extrakci ho bylo využito 220 ml. Extrakce probíhaly po dobu jedné hodiny. Vyextrahované směsi rozpouštědla a vonných látek byly po vychladnutí převedeny do Erlenmayerových baněk a uzavřeny, aby vonné látky nevyprchaly.



Obr. 44: Extrakce probíhající v Soxhletově přístroji

4.1.3 Lisování

K lisování jsou nejvhodnější citrusové plody. Tato metoda byla tedy vyzkoušena s pomerančem. Šlo o zjednodušenou verzi, kterou je možno aplikovat v našich laboratorních podmínkách. Tato metoda se spíše blíží metodě enfleurage nebo lisování.

Materiál a chemikálie: pomerančová kůra, rostlinný olej dostupný běžně v obchodech

Pomůcky: uzavíratelná sklenice, nůž, odměrný válec

Postup:

- 75 g kůry z čerstvého pomeranče jsem stlačila do uzavíratelné sklenice o objemu 1l. Kůru jsem zalila 150 ml jedlého rostlinného oleje a nechala jsem ji týden louhovat.
- Po týdnu jsem olej slila do kádinky. V oleji se rozpustily ty složky vonných silic, které jsou nepochopitelné. Polární látky se v něm nerozpustily, po té jsem olej slila do dělicí nálevky a protřepala jej se 40 ml etanolu - tedy s polárním rozpouštědlem.

Látky polární povahy přešly do etanolu. Většina vonných látek je povahy polární.

Závěr: Touto metodou jsem tedy vyizolovala směs vonných látek obsažených v pomerančové kůře. Tyto látky jsou obsažené v etanolu.

4.1.4 Shrnutí

Destilaci vodou nebo destilaci s vodní parou je vhodné podrobit ty rostliny, které obsahují nepolární vonné látky. Tyto budou s vodou nemísitelné a dojde k oddělení silicové vrstvy a destilované vody ihned po destilaci. Předpokládám, že takovými látkami by mohly být cymol (mateřídoušková silice) a d - limonen (citrusová silice). Problém je ale v tom, že jak už bylo několikrát zmíněno, rostliny obsahují směs vonných látek, polárních i nepolárních. K jejich separaci je proto třeba zvolit vhodné rozpouštědlo. Z tohoto důvodu byl pro extrakce za studena zvolen isopropanol, což je látka neutrální, ve které jsou rozpustné polární i nepolární sloučeniny. Až analýza plynovou chromatografií nám ukáže, zda je tato domněnka pravdivá a zda budou tyto látky skutečně v isopropanolu identifikovány.

4.2 Plynová chromatografie

Principem této analytické metody je rovnovážná distribuce složek mezi dvě fáze: plynnou - mobilní a kapalnou - stacionární. Složky jsou vždy separovány v tuhé fázi. Pokud má být vzorek analyzován metodou plynové chromatografie (GC), musí být všechny složky vzorku vypařeny definovaným způsobem. To znamená, že GC je vhodná především pro organické látky s teplotou varu asi do 400 °C. Podmínkou je, aby se látky při vypařování nerozkládaly. Teplota 400 °C představuje horní limit většiny běžných plynových chromatografů.

Plynový chromatograf má tyto základní části: zdroj nosného plynu, zařízení pro regulaci a měření průtoku nosného plynu, nástřiková komůrka, chromatografická kolona, termostat, detektor a zařízení pro zesílení, záznam a vyhodnocení signálu detektoru.

Kvalitativní analýza v plynové chromatografii je založena na porovnání retenčního času nebo objemu neznámé složky retenčním časem nebo objemem standardu při stejných podmínkách chromatografického dělení. Toto dělení se provádí nejméně ve dvou kolonách a různou polaritou stacionární fáze.

Kvantitativní analýze musí předcházet měření plochy píků, které se v současnosti provádí výhradně digitálními integrátory. Po změření ploch lze přistoupit k vlastní analýze některou z níže uvedených metod:²⁴

- Metoda absolutní kalibrace
- Metoda vnitřní normalizace
- Metoda vnitřního standardu
- Metoda standardního přídatku²⁴

K identifikaci našich složek isopropanolových extraktů byla využívána metoda GC-MS, neboli analýza plynovou chromatografií metodou standardního přidavku. Analýza byla prováděna přístrojem Varian 2200.



Obr. 45: Plynový chromatograf Varian 2200

2 ml vzorku z každého extraktu z extrakce isopropanolem za studena byly mikrofiltrací převedeny do viálek a připraveny k analýze. Metoda analýzy byla nastavena Ing. Štěpánkou Klímkovou z fakulty mechatroniky.



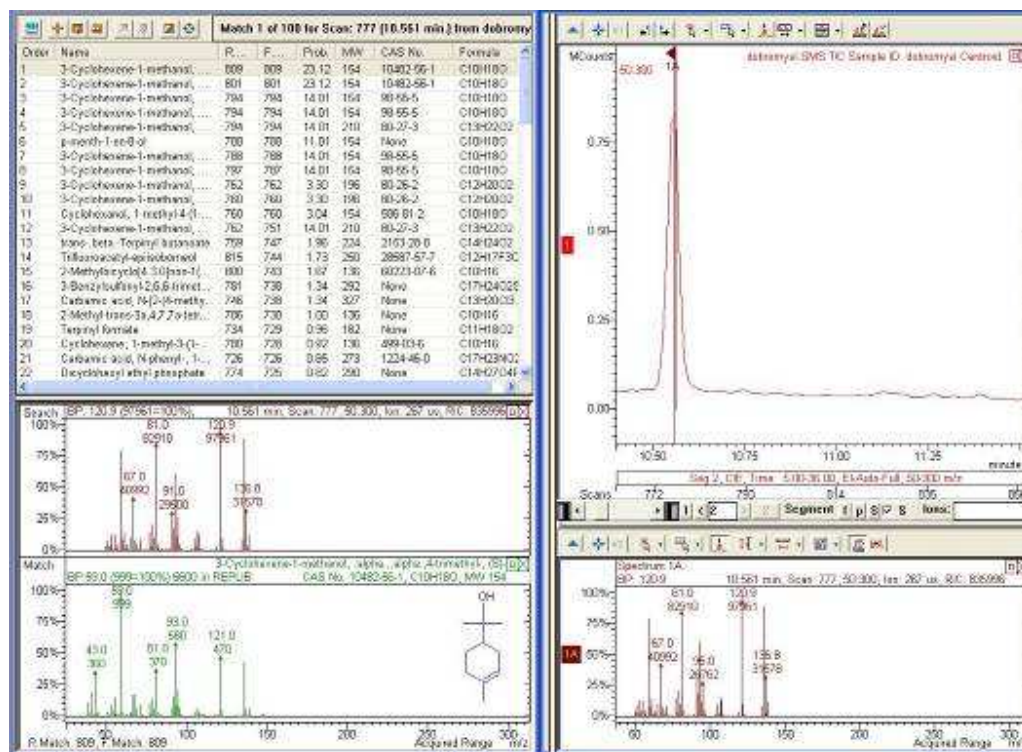
Obr. 46: Viálky s 2 ml vzorku určené k analýze

Tato metoda analýzy nám vykreslila spektra jednotlivých látek, které byly v mých extraktech obsaženy. Porovnáním spekter a píků s databází (knihovnou) přístroje

bylo zjištěno, o jaké látky se jedná. V přílohách této práce jsou seřazena jednotlivá spektra vzorků. Z nich je patrné, jaké látky byly obsaženy v mnou získaných extraktech a zda se jedná o ty látky, které jsou zmíněné v teorii. Do přílohy jsem dala jen ty látky, které byly chromatografem označeny za látky, které se v dané rostlině vyskytují s vyšší pravděpodobností. Každý vzorek však obsahoval desítky různých látek, což také analýza ukázala.

4.2.1 Analýza extraktů

Analýze byly podrobeny tyto vzorky: isopropanolový extrakt máty, meduňky, dobromysli, levandule české a chorvatské. Jednotlivé píky chromatogramu byly srovnané s databází přístroje. V extraktech bylo rozlišeno velké množství chemických látek. Byly nalezeny látky patřící do stejných skupin (aldehydy, fenoly, alkoholy), jako jsou ty, které jsou zmíněné výše. Se studovanou teorií se shodovaly látky identifikované chromatografem v dobromysli – terpineol a v meduňce - citral. V příloze práce jsou seřazeny jednotlivé chromatogramy. Zde jsem uvedla jen chromatograf dobromysli.



Obr. 47: Identifikace terpineolu v extraktu dobromysli

4.3 Výsledky a jejich diskuze

Látky podobné látkám studovaným byly při analýze identifikovány. Analýza také ukázala, že česká a chorvatská levandule se svým složením příliš neliší. K tomu, aby byly dokázány látky, které by se shodovaly s předpoklady, by bylo zapotřebí podrobnějšího studia analýz těchto látek, popřípadě vyvinout složitější metody na jejich separaci. Toto však nebylo náplní této práce a samotná analýza vonných látek plynovou chromatografií by mohla být námětem pro další diplomovou práci.

5. Návrh na zařazení studované problematiky do výuky na ZŠ

Problematika vonných látek v rostlinách spadá do odvětví pokročilé organické chemie, proto sestavit hodinu na toto téma bylo poměrně obtížné, zejména pokud se jedná o hodinu na základní škole. V 1. pololetí jsou znalosti žáků z organické chemie minimální, nebo dokonce žádné. Na některých školách je organická chemie v deváté třídě náplní učiva až od ledna. Pokusila jsem se však hodinu na vonné látky v rostlinách sestavit a sama jsem si tento návrh na Základní škole Dr. F. L. Riegra v Semilech odučila. Na této základní škole jsem vykonávala souvislou pedagogickou praxi, takže mi škola vyšla vstříc a vyčlenila mi vybrané žáky, kteří byli ochotni strávit svůj volný čas ve škole a zajímali se o tuto problematiku.

Vzor, jak hodina vypadala, je uveden na následujících stranách. V příloze diplomové práce jsou pak zveřejněny fotky dětí při vykonávání laboratorní práce. Učivo této problematiky jsem shrnula do dvou vyučovacích hodin. V první hodině jsem žáky uvedla do tématu a provedla stručný a laický výklad o vonných látkách. V druhé hodině pak žáci zpracovávali na toto téma laboratorní práci. K práci používali žákovské vybavení do laboratoře, takže vše bylo prováděno v malých dávkách. Při laboratorním pokusu destilovali vonné látky z hřebíčku.

Myslím si, že tato problematika žáky, zejména pak děvčata, zaujala. Ač k tomu neměli požadované znalosti, byli o hodině ukáznění a dychtiví dovědět se něco nového. Protože byli vybráni jen zájemci, tak jsem neměla ani žádné problémy s dodržováním disciplíny.

5.1 Teoretická část výuky na téma vonné látky v rostlinách

Jméno:

Třída:

Datum:

VONNÉ LÁTKY V ROSTLINÁCH

1. Před vámi leží 5 sáčků, v každém je jiná vonná bylinka, pokuste se podle vašeho čichu určit, o jakou bylinu se jedná. Vybírejte z následujících možností: levandule, meduňka, tymián, dobromysl, hřebíček

Své typy zapište:



č.1:_____ č.2:_____ č.3:_____ č.4:_____ č.5:_____

2. Podle předešlého výkladu se doplňte následující cvičení:

- a) Vonné látky jsou: *anorganické* / *organické* sloučeniny
- b) V jakých částech rostliny se vonné látky vyskytují: (*vyjmenujte alespoň dvě*)
1. _____ 2. _____
- c) Nejbohatší na vonné látky jsou: *sušené* / *čerstvé* části rostlin
- d) V rostlinách se vyskytuje: *jedna vonná látka* / *směs vonných látek*
- e) Vyjmenujte metody, kterými se vonné látky dají z rostlin získat: (*uved'te alespoň 2*)
1. _____ 2. _____
- f) Jaká laboratorní metoda se používá k identifikaci jednotlivých vonných látek?

g) Vyjmenujte alespoň 3 odvětví, kde se vonné látky využívají:

3. Na tabuli máte uvedené triviální názvy chemických vonných látek a rostlinu, ve které se vyskytují. Všechny tyto rostliny jste určovali v úkolu č. 1. Za domácí úkol si za pomoci internetu vyhledejte a запиšte jejich strukturní vzorce:

č. 1:

č. 2:

č. 3:

č. 4:

č. 5:

5.2 Praktická část výuky na téma vonné látky v rostlinách

4. LABORATORNÍ PRÁCE: *Destilace hřebíčku*

Zadání:

V první řadě sestavíme destilační aparaturu. Poté nadrtíme hřebíček a cca 10 g nasypeme ho do destilační baňky. Takto rozdrcený hřebíček zalijeme vodou (100 ml) a přidáme několik varných kamínků. Když budeme mít vše připravené, můžeme začít směs postupně zahřívat. Po chvíli nám rtuť teploměru vyšplhá na hodnotu, při níž začne směs vařit. Zanedlouho od tohoto okamžiku se v jímací baňce začne objevovat heterogenní směs (směs silice a vody). Až budeme mít najímáno asi 25 - 30 ml směsi, destilaci zastavíme. Produkt by měl silně vonět po hřebíčku.

Získanou směs přelijeme do kádinky a začneme přidávat chlorid sodný. (je třeba sůl přidávat opatrně po lžičkách a každý přídavek vždy nechat rozpustit. Když se sůl přestane rozpouštět, s dalším přidáváním přestaneme). Kádinku překryjeme, aby silice nevyrchaly, a necháme ji alespoň 1 - 2 dny stát.

Na hladině vody by se po 2 dnech měla objevit malá vrstvička hnědě zbarvené čisté hřebíčkové silice, kterou lze pomocí automatické pipety odebrat do mikrozkuřavky. Tímto způsobem se získá čistá silice, kterou lze získat ve specializovaných obchodech.

5. LABORATORNÍ PROTOKOL

Jméno a příjmení:

Téma:

Chemikálie:

Pomůcky:

Postup:

Pozorování: *zakreslete destilační aparaturu*

Závěr:

5.3 Řešení

1. Identifikace pytlíků:

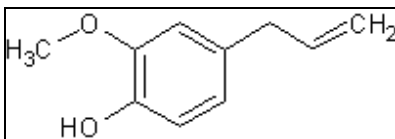
- č. 1: hřebíček
- č. 2: dobromysl
- č. 3: levandule
- č. 4: tymián
- č. 5: meduňka

2. řešení:

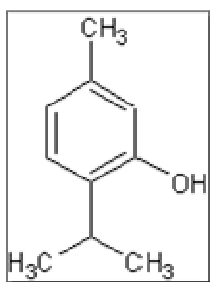
- a) vonné látky jsou *organické* sloučeniny.
- b) Vyskytují se v: *květech, listech* nebo *plodech* rostliny.
- c) Bohatší na vonné látky jsou *čerstvé* části rostlin
- d) V rostlinách se vyskytuje *směs vonných látek*
- e) Vonné látky lze z rostlin získat: *destilací, extrakcí, lisováním*
- f) K identifikaci vonných látek lze využít: *plynovou chromatografii*
- g) Využití vonných látek: *lékařství, parfumerie, kosmetika, farmacie, potravinářství*

3. Struktury a názvy látek z pytlíků ve cvičení 1.:

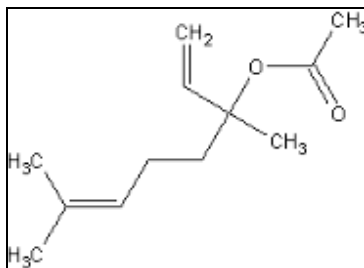
- č. 1: hřebíček – **eugenol** (2-methoxy-4-(prop-2-en-1-yl)phenol)



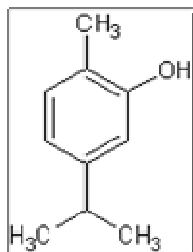
- č. 2: dobromysl - **thymol** (5-methyl-2-(propan-2-yl)fenol)



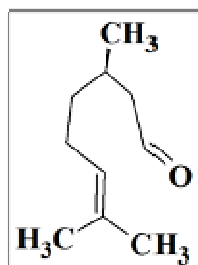
- č. 3: levandule – **linalyl acetát** (3,7-dimetylocta-1,6-dien-3-yl acetát)



- č. 4: tymián- **karvakrol** (2-metyl-5-(propan-2-yl)fenol):



- č. 5: meduňka – **citronellal** Citronellal (3S-3,7-dimetylokt-6-enal):



6. Závěr

Rostliny obsahují velké množství vonných látek. Pro představu jsem do příloh 5 - 7 vložila výsledky analýz, které jsem studovala v zahraniční časopisné literatuře. Z nich je patrné, jak rozmanité složení vonného oleje rostliny mají.^{30,33,34} Tato práce byla zaměřena na látky, které byly ve vybraných rostlinách dle literatury obsaženy ve větším množství. I tady jsem však narazila na problém, protože téměř v každém literárním zdroji, který se mi dostal do rukou, byly popsány jiné základní vonné látky pro tu danou rostlinu. Pokud byly zmiňovány látky stejné, tak zcela v jiném procentuálním zastoupení.^{30,31,32} Popsala jsem tedy alespoň základní látky, které byly dle zdrojů obsaženy v rostlinách ve větším množství. Zjistila jsem, že se ve většině případů jedná o látky velmi podobné. Práce s těmito chemickými látkami je také poměrně složitá, jelikož se jedná o sloučeniny těkavé. Suchý rostlinný materiál byl proto pro laboratorní pokusy separace vonných látek téměř nepoužitelný. Díky analýze plynovou chromatografií se v extraktech podařilo dokázat desítky chemických individuí, což potvrdilo dřívější předpoklady o zastoupení těchto látek v rostlinách.

Jako učební materiál je však tato problematika zajímavým tématem, které by do hodin chemie mohlo být zařazeno. Ne však do osnov školy základní, ale spíše do škol středních, kde jsou znalosti studentů v oblasti chemie hlubší. V dnešní době jsou kvůli náročné a složité práce s těmito látkami často v průmyslu používány jejich syntetické náhrady.

Příroda je mocný organizmus, který nám opět dokázal, že je mocnější nad vědou. Takže tajemství, proč je zrovna této látky v dané rostlině více a v jiné se nevyskytuje, mi zůstalo zahaleno.

7. Literatura

1. Nigel Groom, Průvodce parfémy, nakladatelství: Fortuna Print, rok vydání: 2000
2. Procházka Viktor, Základy parfumerie, nakladatelství: Státní nakladatelství technické literatury, rok vydání: 1958
3. Lesley Bremnessová, Bylinář, nakladatelství: Fortuna Print, rok vydání: 2003
4. Nováková Barbora, Šedivý Zbyněk; Praktická aromaterapie, nakladatelství: Pragma, rok vydání: 1996
5. Farrer- Hallsová Gill, Aromaterapie od A do Z, nakladatelství: Metafora, spol. S.r.o., rok vydání: 2007
6. Štulík Karel a kolektiv, Analytické separační metody, učební texty Univerzity Karlovy v Praze, nakladatelství: Karolinum, rok vydání: 2005
7. Kotek Jan, Laboratorní technika, učební texty Univerzity Karlovy v Praze, nakladatelství: Karolinum, rok vydání: 2007
8. McMurry John, Organic chemistry, Vysoké učení technické v Brně, nakladatelství: VUTIUM, Czech edition: 2007
9. Čeladník Milan, Organická chemie, nakladatelství: Avicem zdravotnické nakladatelství Praha, rok vydání: 1990
10. Kolektiv autorů, Středoškolská chemie, nakladatelství: SPN- pedagogické nakladatelství, a.s., rok vydání: 1999
11. <http://www.slideshare.net/gjr2323/chirality-presentation>
12. http://www.m-aroma.cz/aromaterapie_info.html
13. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Rozpustnost>

14. http://is.muni.cz/th/21631/prif_d/Appendix_III_vysledky.pdf
15. www.kch.tul.cz/texty/exnar/ft/07%20Skupenske%20stavy.doc
16. Javad Safaei-Ghomi , Abdolrasoul H. Ebrahimabadi, Zahra Djafari-Bidgoli, Hossein Batooli, GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol, *Food Chemistry* 115 (2009), 1524-1528
17. Saban Kordali, Ahmet Cakir, Hakan Ozer, Ramazan Cakmakci, Memis Kesdek, Ebru Mete, Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene, *Bioresource Technology* 99 (2008), 8788-8795
18. Lucia Rivas, Mary J. McDonnell, Catherine M. Burgess, Martin O'Brien, Alberto Navarro-Villa, Séamus Fanning, Geraldine Duffy, Inhibition of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol, *International Journal of Food Microbiology* 139 (2010), 70–78
19. <http://msds.chem.ox.ac.uk/>
20. <http://www.thegoodscentscompany.com>
21. <http://www.merck-chemicals.com/czech-republic>
22. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Thujon>
23. M.G.Evandri, L. Battinelli, D. Daniele, S. Mastrangelo, P. Bolle, G. Mazzanti, The antimutagenic activity of *Levandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay, *Food and Chemical Toxicology* 43 (2005), 1381-1387
24. Volka Karel a kolektiv; *Analytická chemie II*, nakladatelství: Praha, rok vydání: 1995
25. <http://www.tech-info.cz/parfumerie/vyroba-vonnych-latek.html>

26. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Toxicita>
27. Accelrys – možnost stažení volných programů: <http://accelrys.com/products/discovery-studio/visualization-download.php>, dostupné 5.12.2010
28. ChemSpider: <http://www.chemspider.com>, dostupné 5.12.2010
29. Cambridge ChemBio software Chem 3D:
<http://www.cambridgesoft.com/software/chembio3d/>, dostupné 5.12.2010
30. C.C. Liolios, O. Gortzi, S. Lalas, J. Tsaknis, I. Chinou, Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity, *Food Chemistry* 112 (2009), 77 – 83
31. R.S. Chauhana, M.K. Kaula, A.K. Shahia, Arun Kumara, G. Rama, Aldo Tawab, Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. accession [IIIM(J)26] from North-West Himalayan region, India, *Industrial crops and products* 29 (2009), 654 – 656
32. Danute Mockute, Genovaite Bernotiene, Asta Judzentiene, The Essentials oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *Vulgare* growing wild in Vilnius district, *Phytochemistry* 57 (2001), 65 – 69
33. S. Nejad Ebrahimi, J. Hadian, M.H. Mirjalili, A. Sonboli, M. Yousefzadi, Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages, *Food Chemistry* 110 (2008), 927 -931
34. Ali Reza Fakhari, Peyman Salehi, Rouhollah Heydari a, Samad Nejad Ebrahimi, Paul R. Haddad, Hydrodistillation-headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia* Mill., *Jurnal of Chromatography A* 1098 (2005), 14 – 18
35. <http://botanika.wendys.cz/kytky/prew.php?../foto/O569.jpg>
36. http://www.celysvet.cz/images.php?fotka=ruze_1&dd=135

37. <http://www.aschira.estranky.cz/clanky/-aromaterapie-a-bylinky-/levandule.html>
38. <http://www.vltava2000.cz/caje-kava-bylinky/goods-1411-18-medunka-lekarska-30g.html>
39. <http://mamstyl.blog.cz/0603/6>
40. <http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id38259/>
41. <http://www.ireceptar.cz/res/data/100/012331.jpg>
42. <http://www.ordinace.cz/img/text/6738.jpg>
43. http://www.e-zahrady.cz/img/upload/herbar_25466152.jpg
44. <http://www.extrakrasa.cz/zdravi/prirodni-zazraky/>
45. <http://www.vitarian.cz/view.php?cislocclanku=2004011001>
46. <http://www.ac-orleans-tours.fr/physique/docly/divers/parfum/enfleurage.html>
47. <http://www.kralupy.cz/dg/www2/stranky/chemie/destilace.htm>

8. Přílohy

Příloha 1: Výsledky analýzy identifikace látek chorvatské levandule

Příloha 2: Výsledky analýzy identifikace látek české levandule

Příloha 3: Výsledky analýzy identifikace látek máty peprné

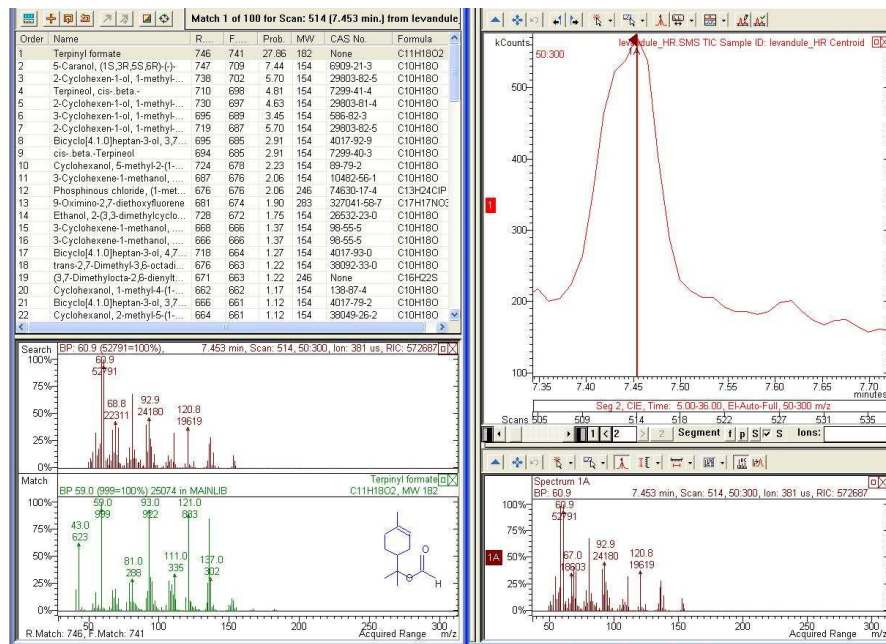
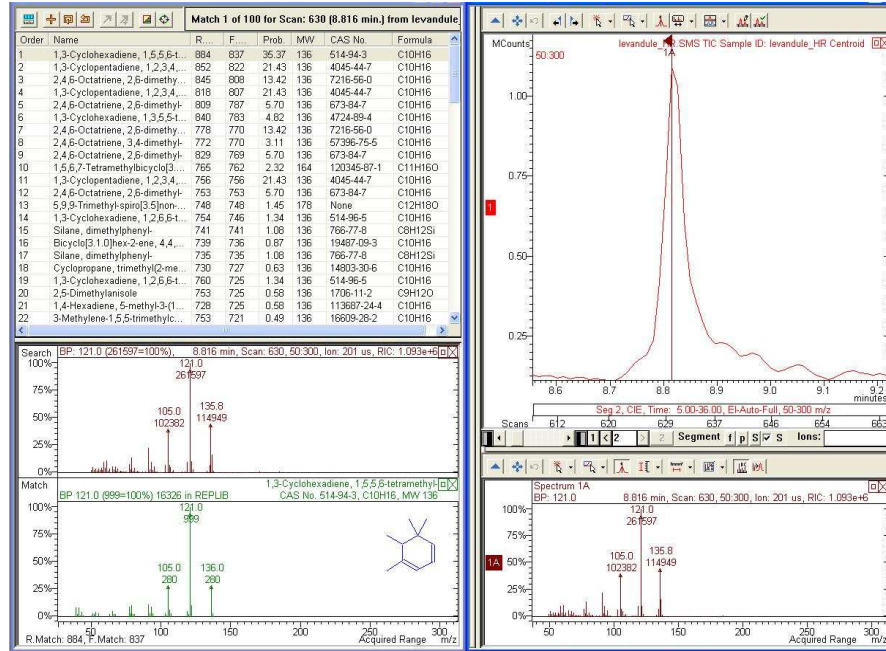
Příloha 4: Výsledky analýzy identifikace látek meduňky lékařské

Příloha 5: Přehled látek identifikovaných v dobromysli plynovou chromatografií po vodní destilaci

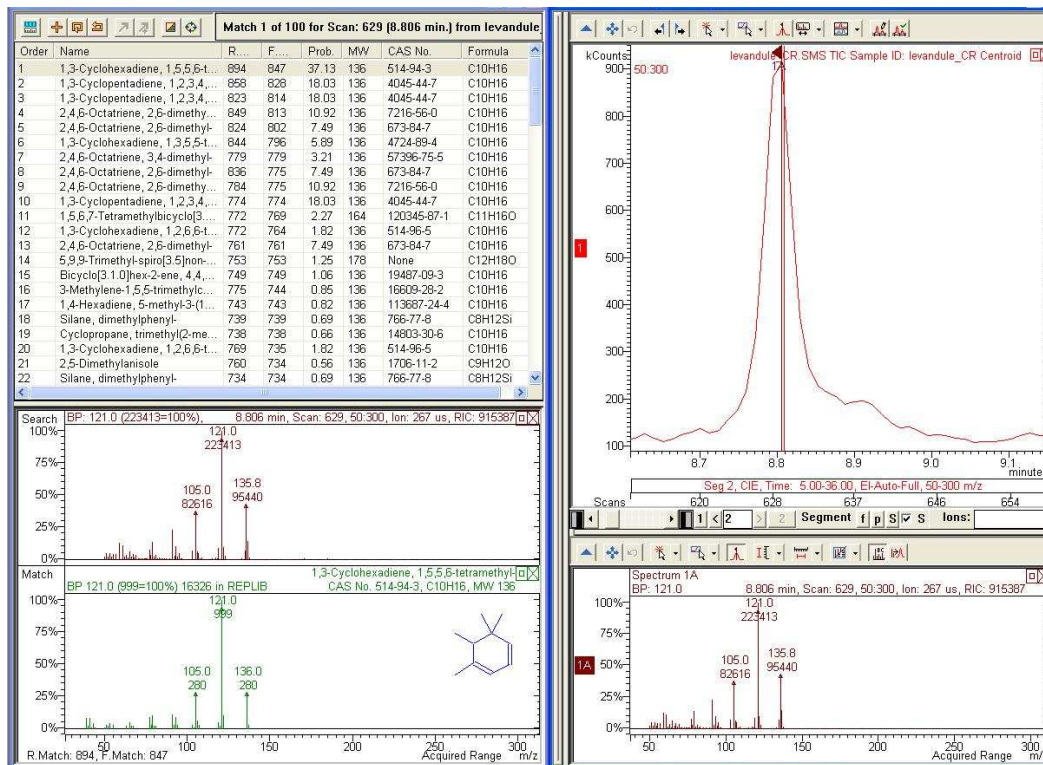
Příloha 6: Složení vonného oleje mateřídoušky v odlišných stádiích vývoje rostliny

Příloha 7: Analýza látek obsažených v extraktu levandule lékařské

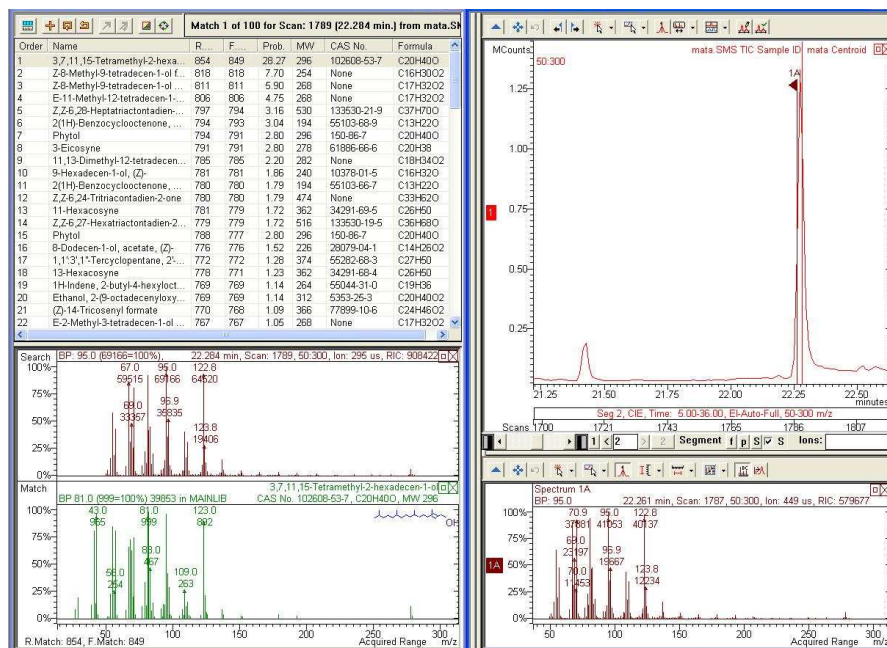
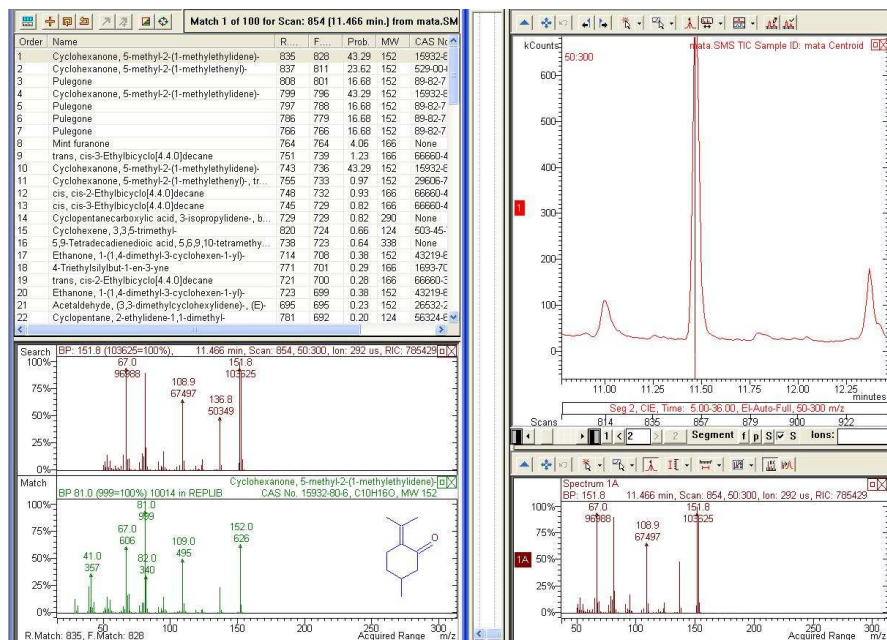
Příloha 1: Výsledky analýzy identifikace látek chorvatské levandule



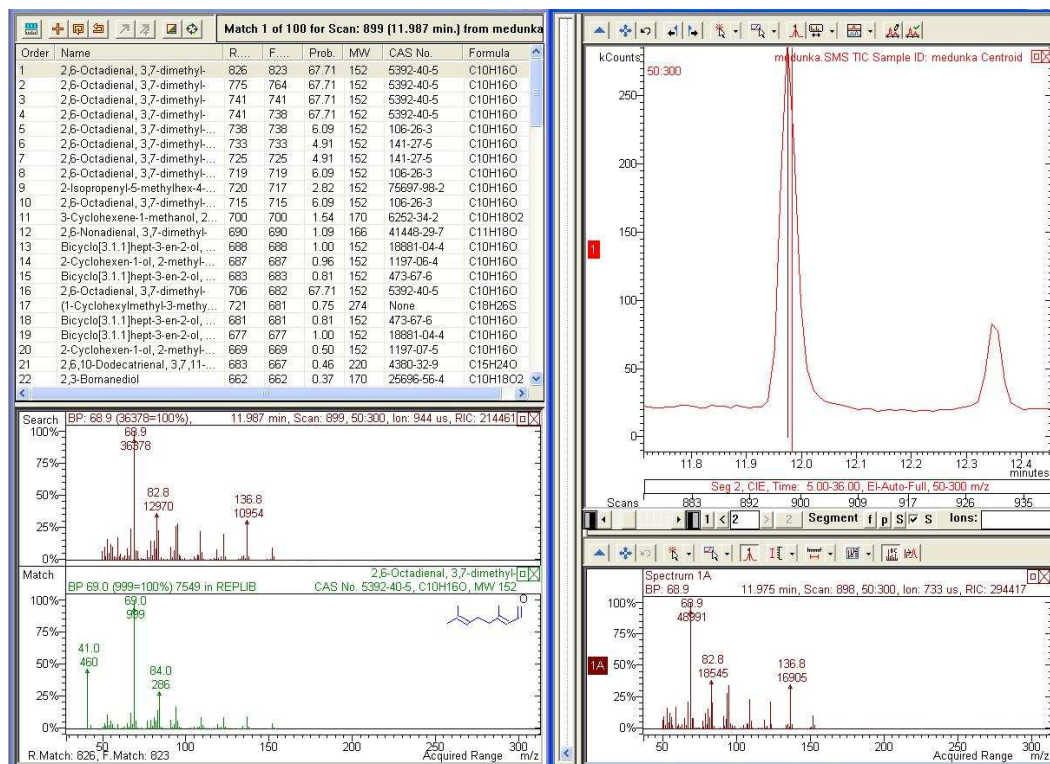
Příloha 2: Výsledky analýzy identifikace látek české levandule



Příloha 3: Výsledky analýzy identifikace látek máty peprné



Příloha 4: Výsledky analýzy identifikace látek meduňky lékařské: citral



Příloha 5: Přehled látek identifikovaných v dobromysli plynovou chromatografií po vodní destilaci³⁰

A/A	Component	<i>O. dictamnus</i> wild	<i>O. dictamnus</i> cultiv.	RT ^a	RI ^b	Method of identification
1.	<i>trans</i> -2-hexenal	–	0.13	3.87	798	a,b,d
2.	α -Thujene	1.44	1.17	5.93	930	a,b,d
3.	α -Pinene	0.63	0.59	6.16	936	a,b,d
4.	Camphene	0.15	0.12	6.63	949	a,b,d
5.	β -Thujene	–	0.27	7.59	972	a,b,d
6.	Sabinene	0.22	0.51	7.68	974	a,b,d
7.	β -Pinene	0.12	–	8.36	988	a,b,d
8.	1-Octen-3-ol	0.27	–	8.39	989	a,b,d
9.	Myrcene	1.63	0.98	8.42	990	a,b,d
10.	3-Octanol	0.11	–	8.47	991	a,b,d
11.	α -Phellandrene	0.33	–	8.88	999	a,b,d
12.	δ -3-carene	0.09	–	8.90	1009	a,b,d
13.	α -Terpinene	2.82	2.39	9.53	1014	a,b,c,d
14.	π -Cymene	8.78	10.1	10.84	1041	a,b,d
15.	Limonene	0.48	–	10.86	1042	a,b,c,d
16.	<i>trans</i> - β -ocimene	0.10	–	11.01	1045	a,b,d
17.	γ -Terpinene	14.1	9.20	12.57	1073	a,b,d
18.	<i>cis</i> -Sabinene Hydrate	1.07	0.88	12.64	1075	a,b,d
19.	Terpinolene	0.10	0.13	13.14	1083	a,b,d
20.	Linalool	1.10	2.49	14.27	1101	a,b,d
21.	Borneol	–	0.37	16.27	1147	a,b,c,d
22.	iso-borneol	0.42	–	16.25	1146	a,b,d
23.	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	–	1.23	16.30	1147	a,b,d
24.	Terpinen-4-ol	0.46	1.36	17.16	1165	a,b,d
25.	<i>cis</i> -Dihydrocarvone	0.09	–	17.89	1179	a,b,d
26.	<i>trans</i> -Dihydrocarvone	0.11	–	17.93	1180	a,b,d
27.	Carvacrol methyl ether	0.28	–	22.66	1290	a,b,d
28.	<i>i</i> -Carvone	1.52	–	22.70	1291	a,b,c,d
29.	Thymol	0.13	0.61	23.78	1312	a,b,c,d
30.	Carvacrol	51.7	42.9	24.08	1318	a,b,c,d
31.	Dihydrocarvyl acetate	0.27	–	25.04	1336	a,b,d
32.	α -Cubebene	0.38	0.48	25.41	1343	a,b,d
33.	<i>cis</i> -Caryyl acetate	0.14	–	25.50	1344	a,b,d
34.	α -Copaene	2.24	2.91	27.57	1381	a,b,d
35.	β -Bourbonene	0.19	–	27.89	1386	a,b,d
36.	β -Cubebene	0.32	1.45	27.99	1388	a,b,d
37.	4,8- α -epoxy caryophyllene	2.6	–	28.90	1404	a,b,d
38.	β -Caryophyllene	–	3.88	29.03	1408	a,b,d
39.	α -Humulene	0.14	0.34	30.47	1449	a,b,d
40.	Epi-bicycloses quiphellandrene	0.34	1.36	30.89	1460	a,b,d
41.	γ -Cadinene	–	0.15	31.13	1467	a,b,d
42.	Germacrene D	0.47	1.07	31.56	1478	a,b,c,d
43.	β -Bisabolene	0.42	0.55	32.75	1509	a,b,d
44.	α -Amorphene	–	0.16	32.75	1514	a,b,d
45.	δ -Cadinene	1.07	2.33	33.35	1524	a,b,d
46.	α -Cadinene	–	0.26	33.72	1533	a,b,d
47.	Trimethylbicyclo-octan-2-one	–	1.47	34.98	1564	a,b,d
48.	Caryophyllene oxide	0.21	1.11	35.42	1574	a,b,d
49.	T-cadinol	0.12	1.03	38.35	1640	a,b,d
Total		97.2	94.2			

Z tabulky je patrné, že v dobromysli bylo identifikováno 49 chemických individuů. Látkou, která byla obsažena v největším množství, byl karvakrol (42,9%).

Příloha 6: Složení vonného oleje mateřídoušky v odlišných stádiích vývoje rostliny³³

Compounds	RI	Vegetative stage	Floral budding	Flowering stage	Seed set	Identification methods
Hepten-3-one	863	t	0.1	0.2	0.1	RI, MS
α -Thujene	926	1.1	0.6	1.0	0.9	RI, MS
α -Pinene	935	1.1	0.5	0.6	0.8	RI, MS, Col
Camphene	949	0.7	0.3	0.6	0.5	RI, MS
Octan-3-one	961	–	t	0.8	0.8	RI, MS
Sabinene	965	0.9	0.7	–	–	RI, MS
β -Pinene	976	0.3	0.1	0.1	0.3	RI, MS, Col
Octan-3-ol	979	0.2	0.2	t	0.4	RI, MS
Myrcene	981	1.8	1.2	0.9	1.3	RI, MS
α -Phellandrene	1001	0.4	0.2	0.2	0.3	RI, MS
Δ^3 -Carene	1008	0.1	t	t	0.1	RI, MS
α -Terpinene	1012	3.0	1.7	–	–	RI, MS
<i>p</i> -Cymene	1014	4.6	3.0	6.0	8.9	RI, MS
1,8-Cineole	1024	1.6	1.2	1.0	2.0	RI, MS, Col
(Z)- β -Ocimene	1037	0.2	t	–	0.1	RI, MS
γ -Terpinene	1052	8.0	6.4	4.6	6.7	RI, MS, Col
cis-Sabinen hydrate	1056	0.7	0.5	0.9	0.8	RI, MS
Nonan-3-one	1065	t	t	0.1	0.2	RI, MS
Linalol	1083	1.7	1.3	0.7	2.0	RI, MS, Col
trans-Sabinen hydrate	1098	0.2	–	0.2	0.1	RI, MS
trans-Pinocarveol	1126	–	0.2	–	t	RI, MS
Borneol	1153	2.8	2.3	4.0	2.4	RI, MS, Col
Terpine-4-ol	1164	2.0	1.4	0.9	2.4	RI, MS
α -Terpineol	1173	0.2	0.1	0.3	t	RI, MS
cis-Dihydrocarvone	1195	0.4	0.3	0.1	0.1	RI, MS
trans-Dihydrocarvone	1186	t	t	–	0.2	RI, MS
thymol methyl ether	1213	t	0.1	–	–	RI, MS
Bornyl formate	1214	0.1	–	–	0.2	RI, MS
Carvacrol methyl ether	1224	0.6	0.3	0.7	0.6	RI, MS
Carvone	1226	0.2	t	–	0.1	RI, MS, Col
Thymol	1263	4.6	6.0	5.3	2.4	RI, MS, Col
Carvacrol	1282	58.9	66.9	68.9	60.2	RI, MS, Col
Bornyl acetate	1284	t	t	0.1	–	RI, MS
β -Caryophyllene	1419	1.3	1.3	0.5	1.1	RI, MS
β -Bisabolene	1499	0.2	t	–	–	RI, MS
γ -Cadinene	1509	0.1	t	–	t	RI, MS
δ -Cadinene	1523	0.1	–	–	t	RI, MS
cis- α -Bisabolene	1530	1.2	1.7	0.5	1.6	RI, MS
Caryophyllene oxide	1583	–	t	t	0.2	RI, MS, Col
Monoterpene hydrocarbons	13.5	20.7	15.7	15.2		
Oxygenated monoterpenes	82.2	72.9	82.1	80.1		
Sesquiterpene hydrocarbons	1.8	2.7	1.0	3.0		
Oxygenated sesquiterpenes	–	0.2	–	–		
Others	1.4	1.5	1.0	0.3		
Total	99.3	98.6	99.2	97.8		
Oil yield (w/w%)	1.9	2.1	2.5	2.0		

RI, retention indices relative to C₆–C₂₄ n-alkanes on the DB-1 column; t, trace <0.1%; MS, mass spectrum; Col, coinjection with an authentic sample.

Z této tabulky je patrné, že složení vonného oleje je dáno také mimo jiné stářím rostliny. V této studii byl jako hlavní složka vonného oleje mateřídoušky identifikován karvakrol.

Příloha 7: Analýza látek obsažených v extraktu levandule lékařské³⁴

Compound	RI ^a	HD ^b	HD-HSME ^c	RSD ^d
Tricyclene	926	tr	tr ^e	–
α -Pinene	936	0.1	tr	–
Camphene	950	0.4	0.1	12.0
1-Octen-3-ol	962	0.4	0.4	18.0
3-Octanone	966	1.0	0.3	13.0
β -Pinene	977	1.4	0.2	21.0
Myrcene	982	0.2	tr	–
Hexyl acetate	995	tr	0.1	–
α -Phellanderene	1003	0.2	0.9	23.0
α -Terpinene	1014	tr	0.3	3.5
<i>p</i> -Cymene	1016	0.3	tr	–
1,8-Cineole	1026	6.7	0.8	4.0
<i>cis</i> -Ocimene	1038	1.3	tr	–
γ -Terpinene	1046	0.5	tr	–
<i>cis</i> -Linalool oxide	1062	0.4	0.7	3.9
<i>trans</i> -Linalool oxide	1077	tr	tr	–
α -Terpinolene	1079	tr	tr	–
Linalool	1090	35.3	32.8	0.2
Chrysanthemone	1110	tr	tr	–
Camphor	1131	1.6	1.9	0.7
Lavandulol	1153	3.0	4.3	8.3
Borneol	1158	3.1	3.8	4.9
Cryptone	1165	tr	tr	–
Terpin-4-ol	1169	tr	tr	–
Hexyl butyrate	1175	tr	nd ^f	–
α -Terpineol	1180	4.2	6.7	4.8
Verbenone	1193	tr	tr	–
<i>trans</i> -Carveol	1204	tr	nd	–
Nerol	1214	0.7	1.0	1.7
Cumin aldehyde	1221	1.6	2.5	10.6
Carvone	1223	0.3	nd	–
Piperitone	1236	2.0	nd	–
Linalyl acetate	1243	13.4	17.6	6.5
Lavandulyl acetate	1273	10.9	15.9	10.0
Bornyl acetate	1276	0.2	tr	–
Neryl acetate	1343	1.2	2.4	17.0
Geranyl acetate	1362	2.5	5.0	17.0
<i>trans</i> -Caryophyllene	1424	1.6	1.5	22.0
α -Santalene	1428	0.3	nd	–
<i>trans</i> - β -Farnesene	1448	1.0	0.5	24.0
γ -Cadinene	1515	tr	nd ^g	–
Caryophyllene oxide	1583	1.9	nd ^h	–
Monoterpene hydrocarbons	4.4	1.5		
Oxygenated monoterpenes	87.5	92.9		
Sesquiterpene hydrocarbons	4.8	2.0		
Oxygenated sesquiterpenes	1.9	–		
Other	3.0	3.3		
Total	99.6	99.7		

^a Retention indices using a DB-1 column.

Analýza identifikovala 42 různých chemických látek v esenciálním oleji levandule lékařské. Nejvíce zastoupenou látkou byl identifikován linalool.